

**Transportkinetik einiger schwacher
organischer Säuren im proximalen
Konvolut der Rattenniere**

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Harald Sonnenberg

aus Danzig

1964

Druck:

ERNST-REUTER-GESELLSCHAFT
der Förderer und Freunde der Freien Universität Berlin e.V.

DISSERTATIONS-DRUCKSTELLE

1 Berlin 33, Garystr. 45

**Transportkinetik einiger schwacher
organischer Säuren im proximalen
Konvolut der Rattenniere**

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Harald Sonnenberg

aus Danzig

Erster Referent : Prof. Dr. R. Riemschneider

Zweiter Referent : Prof. Dr. K. Urich

Dritter Referent : Prof. Dr. K.J. Ullrich

Tag der mündlichen Prüfung : 9. Juli 1964

Tag der Promotion : 16. DEZ. 1964



Aus dem Physiologischen Institut und dem Institut für Biochemie,
Freie Universität Berlin



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSVERZEICHNIS

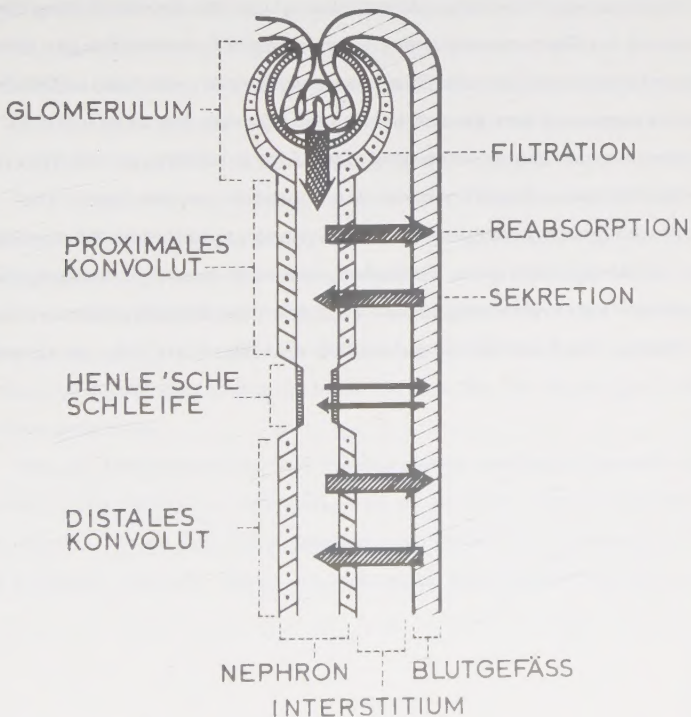
	Seite
Einleitung	1
Problemstellung	3
a) allgemein	3
b) speziell	7
Methodik	10
A. Mikroperfusionen	10
B. Chemische Bestimmungen	14
C. Radioaktive Bestimmungen	19
Ergebnisse	20
A. Sulfamerazin	20
B. Harnsäure	24
C. p-Aminohippursäure	26
Diskussion	31
A. Sulfamerazin	31
B. Harnsäure	35
C. p-Aminohippursäure	37
Zusammenfassung	43
Literatur	45
Anhang	51
1. Tabellen: I Sulfamerazin Reabsorption	I
II Sulfamerazin Sekretion	II
III Harnsäure Reabsorption	III
IV Harnsäure Sekretion und Reabsorption	IV
V PAH Sekretion und Reabsorption	V
VI PAH Sekretion	VI
2. Ergänzung zu den Berechnungen	VII

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

	zu Seite
Mikroperfusionspumpe	11
Punktionsschema	12
Mikroküvette	13
Sulfamerazin Reabsorption	22
Harnsäure Reabsorption	24
PAH Reabsorption	26
PAH Sekretion	27
PAH Sekretion pro durchströmter Fläche	28
PAH Sekretion bei Durchströmung mit	
PAH-enthaltender Lösung	29
Sekretionsschema für PAH	30

EINLEITUNG

In der Niere wird Harn aus dem Blutplasma gebildet. Mit ihm werden Wasser und Elektrolyte, Endprodukte des intermediären Stoffwechsels und viele körperfremde Substanzen ausgeschieden. Die Niere besteht aus einer grossen Anzahl - 2 Millionen beim Menschen - von strukturellen und funktionellen Einheiten, den Nephronen. Die Gesamtfunktion des Organs kann als Summation der Einzelfunktionen jedes Nephrons angesehen werden. Anhand einer schematischen Darstellung des Nephrons können die verschiedenen Wege, die Plasmabestandteile während der Nierenpassage einschlagen, gezeigt werden:



Bei der Durchströmung des Glomerulus wird dem Blute ein Ultrafiltrat abgepresst. Dieses Filtrat, auch Primärharn genannt, fließt durch die verschiedenen Tubulusabschnitte. Dabei werden Natriumchlorid und Wasser durch zelluläre Mechanismen in das Blut zurückgeführt. Andere Substanzen, für die die Tubuluswand undurchlässig ist, werden im Urin ausgeschieden. Einige wichtige Bestandteile des Blutplasmas, wie zum Beispiel Glukose und Aminosäuren sind im Endurin jedoch nicht, oder nur in geringen Mengen nachweisbar. Diese Stoffe gelangen, gegen einen Konzentrationsgradienten, aus dem Tubuluslumen durch Reabsorption in das Blut zurück. Andere Substanzen, unter denen sich auch körperfremde Stoffe wie organische Säuren befinden, werden im Urin in höheren Konzentrationen gefunden, als durch Filtration allein zu erwarten ist. Ein aktiver Sekretionsmechanismus wird deshalb angenommen, um die Anreicherung dieser Substanzen im Harn zu erklären. Obwohl viele Untersuchungen über Nierensekretion und aktiven Transport vorliegen, sind die zellulären Mechanismen noch weitgehend unbekannt, da mit den angewandten Methoden nur das Summenintegral der unterschiedlichen Teilfunktionen der verschiedenen Nephronabschnitte ermittelt werden kann. Die Theorien über den Transport von schwachen organischen Säuren basieren somit auf indirekten Befunden, die sich zum Teil widersprechen. Nur nach direkter Messung in den einzelnen Nephronabschnitten kann es gelingen, die Ausscheidungsfunktion der Niere als Ganzes zu verstehen.

PROBLEMSTELLUNG

a) Allgemein

Die Überlegungen von Bowman (1) im Jahre 1842 können als Beginn einer Theorienbildung in der Nierenphysiologie angesehen werden. Er charakterisierte das Glomerulum als einen Apparat zur Trennung des Wassers vom Blutplasma. Seine Annahme der Sekretion von gelösten Substanzen durch die Tubuluszellen wurde jedoch von Ludwig (2) zurückgewiesen, der 1844 eine eigene Theorie eines Ultrafiltrates als Primärharn, aus dem Wasser und gelöste Stoffe durch die Tubuluswand in das Blutplasma zurückdiffundieren, formulierte. Unterschiedliche Konzentrationsverhältnisse der Blutbestandteile in Harn und Blutplasma erklärte er auf Grund von Plasmaeiweißbindung und selektiver Durchlässigkeit der Tubuluszellen. Heidenhain's (3) Feststellung einer intratubulären Anreicherung von intravenös injiziertem Farbstoff gab der Sekretionstheorie wieder neuen Auftrieb. Da keine quantitativen Untersuchungen vorgenommen wurden, blieb die Diskrepanz zwischen diesen beiden Theorien der Nierenfunktion jedoch bestehen, bis es Richards (4) 1923 gelang, auf Grund von Mikropunktionen an der Amphibienniere eine Ultrafiltration durch die glomeruläre Membran und eine Reabsorption durch die Tubuluszellen zu beweisen. Auch die tubuläre Sekretion wurde ein Jahr später von Marshall (5) gefunden und somit der Beweis für die Richtigkeit beider Theorien erbracht.

Um die Bestimmungen von Reabsorption und Sekretion auf eine quantitative Grundlage zu bringen, war es wichtig, das Filtratvolumen zu ermitteln. Nach den Überlegungen von Smith (6) mußte eine Substanz gefunden werden, die im Glomerulum ungehindert filtriert, und

im Tubulus weder sezerniert noch reabsorbiert wurde. Die Menge des Filtrates ließe sich dann nach einer einfachen Gleichung berechnen:

$$F = \frac{UV}{P}$$

worin F = Filtratvolumen, UV = im Harn pro Minute ausgeschiedene Substanzmenge, P = Konzentration der Substanz im Plasma ist. Das Filtratvolumen entspricht in diesem Falle der sogenannten "Clearance" der Substanz, d.h. des Plasmavolumens, welches die ausgeschiedene Substanzmenge UV enthielt. Ist die Clearance eines Stoffes größer als die gleichzeitig ermittelte Filtrationsrate, so liegt zusätzliche tubuläre Sekretion vor, ist die Clearance geringer, wird die Substanz aus dem Filtrat reabsorbiert.

Außer passiver Diffusion werden viele organische Säuren über einen aktiven Transportmechanismus gegen ein Konzentrationsgefälle durch die Tubuluswand befördert. Dieser Transport zeigt eine charakteristische Sättigung: Wird die Konzentration einer sezernierbaren Substanz im Plasma erhöht, nimmt die sezernierte Menge zunächst zu. Bei einer bestimmten Plasmakonzentration wird ein Transportmaximum erreicht (T_m), das bei weiter steigendem Angebot konstant bleibt. Es wird angenommen, daß im Nephron eine begrenzte Anzahl von Stellen für den Transport zur Verfügung stehen. Sind die Stellen mit Substrat gesättigt, kann keine weitere Steigerung des Transportes stattfinden. Für diese Annahme spricht auch der Befund der "kompetitiven Hemmung": Wird eine zweite Substanz, die mit dem gleichen Mechanismus transportiert wird, in das Plasma gegeben, so sinkt das T_m der ersten ab. Ein Teil der Transportstellen wird durch Substanz 2 belegt und ist nicht mehr für den Transport von Substanz 1 verfügbar. Diese Theorie der Filtration und Sekretion oder Reabsorption wurde von Smith vertreten und ist unter seinem Namen bekannt.

Ein zweiter Mechanismus, durch den schwache Säuren gegen ein Konzentrationsgefälle transportiert werden können, ist die sogenannte "non-ionic diffusion" (7). Dieser Transport geschieht durch physico-chemische Diffusionsprozesse und beruht auf der größeren Membrandurchlässigkeit für nicht ionisierte als für ionisierte Anteile der Säuren. Außer zur Erhaltung der pH Differenz zwischen Lumen und Interstitium braucht kein aktiver Transport oder energiebedürftiger Prozeß angenommen zu werden. Es ist bekannt, daß Moleküle mit einem hohen Öl-Wasser Verteilungskoeffizienten leichter durch Zellmembranen diffundieren als solche mit einer geringen Lipid- Löslichkeit (21). Bei einer schwach dissoziierten Säure ist also zu erwarten, daß der hydrophile, ionisierte Anteil die Tubulusmembran in geringerem Maße passiert als der lipophile, nicht ionisierte Anteil. Der pH Wert im Tubuluslumen liegt normalerweise unter dem Wert - 7.4 - des Blutes. Eine organische Säure mit einem pK_a in diesem Bereich ist im Tubulus zu einem stärkeren Grade dissoziiert als im Blut. Es besteht also ein Konzentrationsgradient für den permeablen nicht ionisierten Anteil, sodaß durch Diffusion eine Anreicherung der Säure im Lumen zustandekommen kann. Das theoretisch mögliche Konzentrationsverhältnis wird mit Hilfe einer Umformung der Henderson-Hasselbalch'schen Gleichung bestimmt:

$$R = \frac{1 + 10 (pH_L - pK_a)}{1 + 10 (pH_B - pK_a)}$$

R ist das Konzentrationsverhältnis der Säure zwischen Lumen und Blut nach Einstellung des Gleichgewichtes, pH_L und pH_B sind die Werte im Lumen und Blut, und pK_a ist der pK Wert der Säure. Diese theoretische Konzentration wird im Tubulus jedoch nicht erreicht, da die Annahmen der vollkommenen Undurchlässigkeit für den ionisierten Anteil und der ausreichenden Zeit für die Einstellung des

transtubulären Gleichgewichtes in der Niere nicht unbedingt zutreffen.

Die Annahme einer "non-ionic diffusion" hat den Vorteil, den Transport von schwachen organischen Säuren auf physico-chemischer Grundlage zu erklären. Obwohl eine pH-Abhängigkeit der renalen Ausscheidung einiger Substanzen gefunden wurde, kann der renale Transport nicht ausschließlich auf dieser Basis beruhen, da Sättigung und kompetitive Hemmung dadurch nicht erklärt werden können. Mudge und Mitarbeiter (8) nehmen deshalb an, daß sowohl Filtration und aktive Sekretion als auch passive "non-ionic diffusion" an der renalen Ausscheidung beteiligt sind: Die filtrierte Menge der Substanz variiert mit dem jeweiligen Bindungsgrad an Plasmaproteine, da die Eiweißkörper die Glomerulummembran nicht passieren. Die aktive Sekretion, deren Mechanismus unbekannt ist, ist relativ unspezifisch, unter der Voraussetzung, daß das transportierte Molekül ein dissoziierbares H-Ion besitzt, welches die Bildung des negativ geladenen Anions erlaubt. Passive Reabsorption erfolgt über "non-ionic diffusion" in Abhängigkeit vom pH der Tubulusflüssigkeit, pK_a der organischen Säure und den Lipoidlöslichkeiten der dissoziierten und undissoziierten Anteile.

Da aktive Sekretion Bindung an ein Trägermolekül voraussetzt, ist die Annahme eines relativ unspezifischen Transportsystems umstritten. Auf Grund von Untersuchungen an Nierenschnitten erklärt Despopoulos (9) deshalb unterschiedliche Exkretion von verschiedenen organischen Säuren durch strukturbedingte Affinitätsdifferenzen zu einem spezifischen Trägermolekül. Organische Säuren, die über den Träger transportiert werden, müssen die Konfiguration $R' - C : O - N X - (CHR'')_n - COOH$ enthalten (10). Die Bindung an den Rezeptor erfolgt durch Wasserstoffbrücken an der Carbonyl- und Carboxylgruppe, mit einer zusätzlichen ionischen Bindung an der letzteren. Die relativen Affinitäten sind durch die Gruppen R' , R'' und X bedingt, welche

die Reaktivität des Moleküls bestimmen. Diese Hypothese hat den Vorteil der Einfachheit, da die Annahme eines Drei-Phasen Mechanismus nicht notwendig ist. Transportspezifität und -kapazität beruhen ausschließlich auf physico-chemischer Wechselwirkung zwischen Substrat und postuliertem Rezeptor.

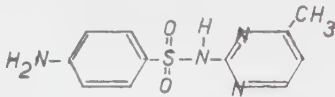
b) Spezielle Problemstellung:

Der renale Transport von schwachen organischen Säuren läßt sich weder mit Clearance Methoden noch mit Versuchen an Nierenschnitten direkt untersuchen. Zur Bestimmung der Ausscheidungsfunktion der ganzen Niere ist es notwendig, zuerst die Teilfunktionen in den verschiedenen Nephronabschnitten - proximalem und distalem Konvolut, Henle'scher Schleife und Sammelrohr - unter physiologischen Bedingungen einzeln zu messen. Zu diesem Zwecke wurde eine Methode entwickelt, die es erlaubt, an Teilen eines einzelnen Nephrons Reabsorption und Sekretion von Substanzen getrennt zu untersuchen. Unter Ausschließung des Glomerulumfiltrates wird der Tubulus *in situ et vivo* mit Hilfe einer Mikroperfusionsapparatur konstant durchströmt. Die Lösung wird wieder aufgefangen und analysiert. Wird die zu untersuchende Substanz dem Perfusat zugesetzt, kann ihre Reabsorption bestimmt werden, da auf der dem Lumen abgewandten Seite der Tubuluswand die Konzentration effektiv gleich Null bleibt. Gibt man die Substanz in das Plasma des Tieres, so setzt sich die im Perfusat gefundene Menge aus Sekretion und Reabsorption zusammen. Wird von diesem die vorher bestimmte Reabsorption abgezogen, erhält man die reine Sekretion. Zur gleichzeitigen Bestimmung der beiden Transportvorgänge wird in das Perfusat radioaktiv markierte Säure gegeben und dem Versuchstier dieselbe, nicht markierte, Substanz infundiert. Aus chemischen

und radioaktiven Messungen lassen sich die unidirektionalen transtubulären Flüsse errechnen. Außerdem kann mit Lösungen von unterschiedlicher H^+ Konzentration perfundiert werden. Dadurch ist es möglich, die Frage der "non-ionic diffusion" direkt zu klären.

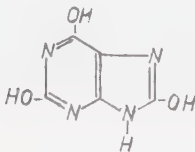
Bisherige Befunde der pH-Abhängigkeit des renalen Transportes werden auf Grund nicht zu vermeidender Verschiebungen des Säure-Basen Gleichgewichtes des Versuchstieres angezweifelt. Da der aktive Transport von organischen Substanzen im proximalen Teil des Nephrons (6) liegt, wurden in den vorliegenden Untersuchungen Teile des proximalen Konvolutes der Rattenniere perfundiert, um die transtubulären Transportmechanismen von Sulfamerazin, Harnsäure und p-Aminohipursäure zu bestimmen. Diese drei Substanzen wurden aus folgenden Gründen gewählt:

1. Das Sulfonamid Sulfamerazin (2-Sulfanilamido-4-Methylpyrimidin) mit der Strukturformel



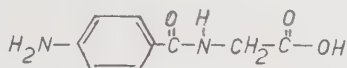
wird nach Clearance Untersuchungen (11) und Versuchen an Nierenschnitten (9) passiv ausgeschieden. Der pK_a dieser Säure liegt mit 6.98 in einem solchen Bereich, daß physiologisch vertretbare Veränderungen des intratubulären pH relativ große Änderungen in dem Dissoziationsgrad der Substanz zur Folge haben. Sulfamerazin schien deshalb geeignet, die Möglichkeit einer "non-ionic diffusion" mit Hilfe der Perfusionstechnik am Tubulus direkt zu untersuchen.

2. Harnsäure (2,6,8-Trihydroxypurin) hat die Strukturformel



und besitzt in dem physiologischen pH-Bereich zwei dissoziierbare H-Ionen ($pK_{a_1} = 5.78$, $pK_{a_2} = 5.85$). Obwohl auch hier eine " non-ionic diffusion " vorliegen könnte, wird in der Literatur (12) eine pH-unabhängige, aktive Reabsorption aus dem proximalen Tubulus für Harnsäure angegeben. Diese Substanz wurde darum zur Untersuchung der Reabsorption durch energiebedürftige tubuläre Prozesse ausgewählt.

3. p-Aminohippursäure, im folgenden auch als PAH abgekürzt, mit der Strukturformel



und einem pK_a von 3.83 ist eine Substanz, die nur durch Filtration und zusätzliche transtubuläre Sekretion ausgeschieden wird (6). Mit Hilfe dieser organischen Säure sollte der Mechanismus der aktiven Sekretion untersucht werden, da der niedrige pK_a eine zusätzliche " non-ionic diffusion " unwahrscheinlich macht.

METHODIK

A. Mikroperfusionen

1. Perfusionsapparatur

Eine Mikroperfusionspumpe wurde entwickelt, um eine konstante Durchströmung des Nierentubulus in vivo et situ zu ermöglichen (13). Die Perfusionsraten sind in dem Bereich der normalen intratubulären Stromstärke variierbar und reproduzierbar.

Eine schematische Darstellung der Pumpe und das Schaltbild für den Antrieb zeigen Abb. 1a und 1b. Durch einen Asynchronmotor wird über ein Getriebe mit der Übersetzung 1 : 16000 ein Stahlstift in den Schaft einer Mikropunktionskapillare gedreht. Die Kapillare befindet sich in einer Halterung, deren Basis zusammen mit dem Stahlstift durch einen Teflonkonus abgedichtet ist. Beim Vorschieben des Stiftes wird eingefüllte Flüssigkeit aus dem Lumen der Kapillare verdrängt und aus der Spitze ausgepresst. Die Motorendrehzahl und damit die Perfusionsrate wird stufenlos über eine angelegte Bremsspannung reguliert, Schwankungen in der Eingangsspannung werden durch einen Spannungskonstanthalter ausgeglichen und so Änderungen der eingestellten Motorendrehzahl vermieden. Die Perfusionspumpe ist auf einen Leitz Mikromanipulator montiert, der es erlaubt, die aufgesetzte Punktionskapillare in das Lumen eines Nierentubulus zu stechen.

Zur Bestimmung der genauen Perfusionsrate wird die Apparatur auf folgende Weise geeicht: Die Wanderungsgeschwindigkeit einer Öl-Wasser-Grenzfläche in der Mikrokapillare wird unter dem Mikroskop bestimmt, der Lumendurchmesser mit einem Okularmikrometer gemessen und die Perfusionsrate errechnet. Die Strömungsgeschwindigkeit ist in dem Bereich von 1 bis 4×10^{-5} ml/min variierbar und

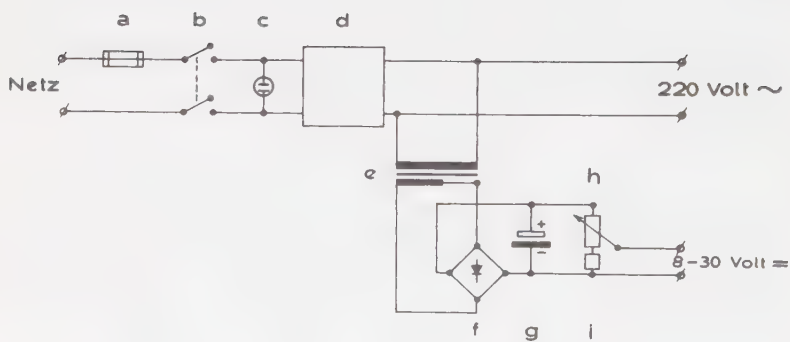
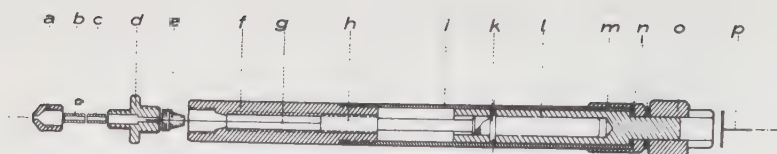


Abb. 1a: Schnittzeichnung der Mikroperfusionspumpe.

Die Perfusionskapillare wird mit Hilfe der Spannmutter a, des Druckstiftes b und des Dichtungsgummis c in die Kapillarführung d eingespannt. Die Führung wird in die Pumpenhülse f eingeschraubt, wodurch das Teflonstück e zusammengepreßt wird und den Kolbenstift g abdichtet. In der Gabel der Kolbenspindel h gleitet der Kupplungsstift k der Kupplung l, der über die Gleitringe n und Verschraubung m mit der Motorwelle p verbunden ist.

Abb. 1b: Prinzipschaltung für den Pumpenmotor (siemens Regelmotor K2AJ3). Der Netzstrom wird über eine Sicherung a aus Schalter b und einem Anzeigelämpchen c einem magnetischen Spannungskonstanthalter d zugeführt. Dessen konstante Ausgangsspannung treibt einerseits den Pumpenmotor an, zum anderen wird sie über einen Transformator e einem Gleichrichter f zugeführt. Die Gleichspannung wird durch Kondensator g geglättet und speist über einen regelbaren Spannungsteiler h-i die Bremsfeldwirkung des Motors.

ist bei einem Lumendurchmesser der Kapillarspitze von über $2\text{ }\mu\text{kon-}$ stant, unabhängig davon, ob die Spitze während der Eichung intratubulär liegt oder in ein Wasserbad taucht. Es ist jedoch erforderlich, die Kapillare gegen Luftzüge abzuschirmen. Da Änderungen der Flüssigkeitsdehnung durch Temperaturschwankungen Unregelmäßigkeiten in der Stromstärke verursachen, wird ein Polyäthylenschlauch über die Punktionskapillare gestülpt.

Eine Perfusionsrate von 2×10^{-5} ml/min wurde gewählt, da diese der normalen Stromstärke im proximalen Tubulus der Ratten- niere entspricht (14). Bei dieser Einstellung ergaben Eichungen der Apparatur im Verlauf von mehreren Monaten einen Mittelwert von $1,96 \times 10^{-5}$ ml/min mit einer Standardabweichung von $0,05 \times 10^{-5}$ ml/min.

2. Versuchstierpräparation

Die Untersuchungen wurden an 150 bis 250 g schweren Ratten des Stammes FW 49 durchgeführt. Nach Narkotisierung durch intra- peritoneale Gabe von Inactin (9 mg/ 100 g Körpergewicht) wird das Versuchstier auf ein Operationstischchen gelegt, welches die Körper- temperatur mittels eines rectalen Thermistors und einer elektrischen Heizung automatisch auf 38° C hält. Polyäthylenkatheter werden in die Vena femoralis und Vena jugularis externa eingebunden und zur Injek- tion von Testsubstanzen und Blutentnahmen benutzt. Durch einen Flan- kenschnitt unterhalb des Rippenbogens wird die linke Niere freigelegt und von Peritoneum und Fett gelöst. Die Niere wird in ein wattiertes Plexiglasschälchen gebettet und durch Auftropfen von gewärmtem Paraffinöl vor Abkühlen und Austrocknen bewahrt. Nach vorsichtiger Präparation bleibt ein guter Funktionszustand der Niere, sichtbar an

der intratubulären Strömungsgeschwindigkeit und der unverändert schnellen Strömung in den oberflächlichen Blutkapillaren, über einen Zeitraum von 4 - 5 Stunden erhalten.

3. Perfusionstechnik

Nachdem die Niere freigelegt und eingebettet ist, wird unter stereomikroskopischer Beobachtung bei 100facher Vergrößerung eine ölgefüllte Glaskapillare (äußerer Spitzendurchmesser 8 - 10 μ) in eine oberflächliche Schlinge eines proximalen Konvoluts gestochen. Durch kleine, in den intratubulären Harnstrom injizierte Öltröpfchen wird der Verlauf des Tubulus bestimmt. Zeigen sich noch mindestens zwei weiter distal gelegene Konvolutschlingen an der Oberfläche, wird in die erste dieser Schlingen die Mikroperfusionskapillare eingestochen. Der Tubulus zwischen den beiden Kapillaren wird mit Öl gefüllt und die Ölkapillare herausgezogen. Das Glomerulumfiltrat findet nun durch diese Öffnung einen Abfluß. Ein Verschieben der Ölsäule zwischen der ersten und zweiten Punktionsstelle wird durch den Glomerulumfiltratdruck auf der einen, und den Pumpenperfusionsdruck auf der anderen Seite verhindert (Abb. 2). Die Ölkapillare wird nun in eine weiter distal gelegene Schlinge eingeführt und dient zum Absaugen von Proben des Perfusats. Mit dieser Methode können Tubulusstrecken von 0.1 - 3.5 mm Länge perfundiert werden. Da ein quantitatives Absaugen nicht immer gelingt und auch nicht erforderlich ist, werden in einer Zeit von 10 - 15 min 1 - 1.5 x 10⁻⁴ ml Probe gewonnen. Nach Beendigung des Versuchs werden die durchströmten Tubuli mit Neopren gefüllt, und die Niere für 1 1/2 Stunden bei 40° C in 6 N HCl gelegt, um das Auf-fasern zu ermöglichen. Die Länge der perfundierten Tubulus-strecke wird nun mit Hilfe einer Mikrodissektion mikroskopisch gemessen. Zur Berechnung der tubulären Kontaktfläche werden die Lumen-

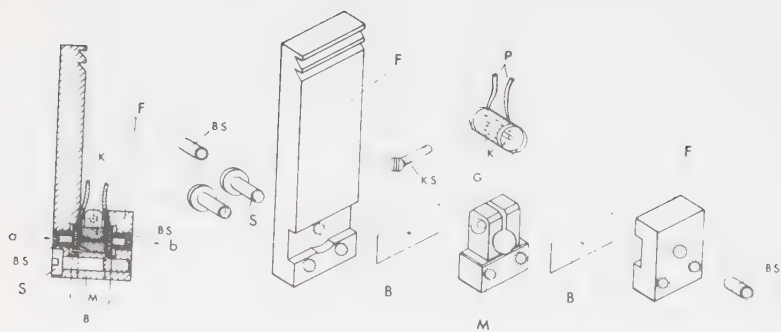
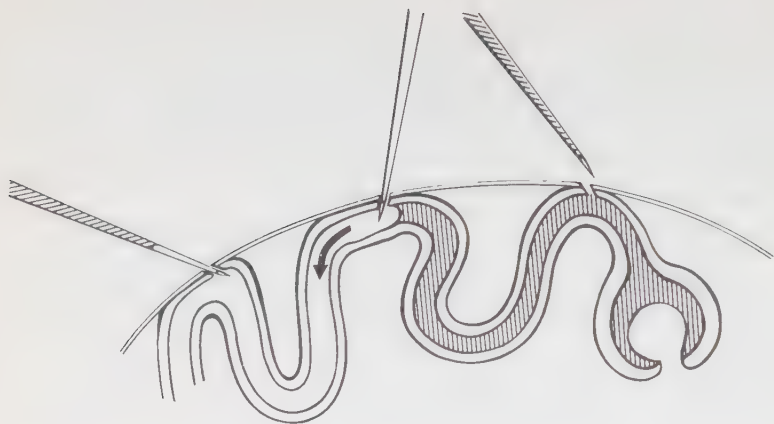


Abb. 2: Mikropunktionsschema. Eine angeschliffene Glaskapillare wird mit Öl gefüllt und in eine oberflächliche Schlinge des proximalen Tubulus eingestochen (rechts). Die Perfusionskapillare wird in eine zweite Schlinge des Tubulus eingeführt (Mitte) und das Tubuluslumen zwischen beiden Kapillaren mit Öl gefüllt. Die Ölkapillare wird nun herausgezogen, in eine dritte oberflächliche Schlinge desselben Tubulus eingestochen (links) und dient zum Absaugen des Perfusates.

Abb. 3: Mikroküvette in Seitenansicht und schematische Darstellung der Einzelteile. $a - b =$ Lichtweg. Die beiden Frontplatten F und das Mittelstück M aus Messing werden durch zwei versenkte Schrauben S zusammengehalten. Die Küvette K mit den aufgeklebten Glasplättchen G und Polyäthylenschläuchen P wird durch Anziehen der Schraube KS in dem Loch des Mittelstückes festgeklemt. Die Blenden B aus Kupferfolie werden unter dem Mikroskop gerichtet, so daß das Loch der Folien und die Bohrung der Küvette übereinstimmen, und mit den durchbohrten Schrauben BS festgesetzt.

weiten der Tubuli aus mikrophotographischen Aufnahmen der Nierenoberfläche bestimmt.

4. Perfusionslösungen

Perfundiert wurde mit sogenannten "Gleichgewichtslösungen", die NaCl in einer Konzentration enthalten, bei der es nach den Untersuchungen von Gertz (15) und Kashgarian et al (16) im proximalen Konvolut zu keinem Na^+ Nettofluß, und somit auch zu keinem Wasserfluß, durch die Tubuluswand kommt, wenn die Isotonie der Lösungen durch eine schwer resorbierbare Substanz wie D (-)-Mannit aufrecht erhalten wird. Da das Polysaccharid Inulin nicht durch die Tubulusmembran tritt (6), kann man es dem Perfusat zusetzen und aus seiner Konzentrationsänderung den transtubulären Wasserfluß errechnen (siehe Anhang). Routinemäßige Inulinbestimmungen in allen Proben mit ausreichendem Volumen zeigen eine mittlere Konzentrationsänderung von $\pm 1 \%$.

Die Zusammensetzung der angewandten Lösungen ist wie folgt:

a) Gleichgewichtslösung pH 5.0

- 33 ml Puffer, bestehend aus 98.8 ml KH_2PO_4 , 0.067 M und 1.2 ml NaH_2PO_4 , 0.067 M
- 0.644 g NaCl
- 0.637 g D (-)-Mannit
- 0.400 g Inulin
- ad 100 ml mit aqua dest.

b) Gleichgewichtslösung pH 8.0

- 33 ml Puffer, bestehend aus 5.5 ml KH_2PO_4 , 0.067 M und 94.5 ml NaH_2PO_4 , 0.067 M
- 0.398 g NaCl
- 1.820 g D (-)-Mannit
- 0.400 g Inulin
- ad 100 ml mit aqua dest.

Für Reabsorptionsuntersuchungen werden diesen Lösungen bestimmte Substanzen in geringer Konzentration zugesetzt. Soll die Lösung eine radioaktive Substanz enthalten, wird anstatt auf 100, auf 50 ml aufgefüllt. 6×10^{-3} ml der Lösung werden dann unter Öl mit dem gleichen Volumen der wässrigen radioaktiven Lösung verdünnt und in die Perfusionskapillare gefüllt. Gefrierpunktsbestimmung der beiden Lösungen ergibt eine Osmolarität von 300 - 315 mOsm/l, flammenphotometrische Bestimmung der Na^+ Konzentration 108 - 110 mEq/l.

B. Chemische Bestimmungen

1. Mikroküvette für spektrophotometrische Bestimmungen

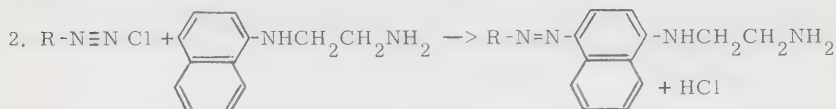
Zur photometrischen Analyse von Flüssigkeiten in einer Gesamtmenge von 5×10^{-4} ml wurde eine Modifikation der Mikroküvette von Ullrich und Hampel (17) entwickelt. Wie aus Abb. 3 zu ersehen ist, wird Kapillarglas (Innendurchmesser = 0.25 mm, Außendurchmesser = 5 mm) auf 6 mm Länge plan abgeschliffen. Polyäthylenschläuche (Innendurchmesser < 0.2 mm) werden in Rillen gelegt, die auf beiden Enden des Glasstückes vom äußeren Rand bis zum Lumen eingefräst sind. Die Schläuche und 0.5 mm dicke Glasplättchen werden mit Araldit auf die Küvette geklebt. Mit Hilfe einer Halterung wird die Absorption eingefüllter Flüssigkeiten in dem Beckman DU Spektrophotometer bestimmt. Eichungen der Mikroküvette ergeben eine Reproduzierbarkeit der Meßwerte, die mit der in normalen Makroküvetten vergleichbar ist.

2. p-Aminohippursäure- und Sulfonamidnachweis

Eine Modifikation der Methode von Bratton und Marshall (18) wurde entwickelt, um Konzentration in Tubulusflüssigkeit - 10^{-5} bis 2×10^{-5} ml - und Serum - 10^{-3} ml - zu bestimmen. Das Prinzip besteht darin, daß die freie NH_2 -Gruppe der p-Aminohippursäure oder

des Sulfonamids mit Natriumnitrit nach Gabe von Salzsäure eine Diazo-Verbindung eingeht. Diese wird durch Zugabe eines Kupplungsreagenz in einen roten Azofarbstoff umgewandelt, der spektrophotometrisch gemessen wird.

Die Reaktionen sind wie folgt:



Nach der Diazo-Reaktion wird Ammoniumsulfamat zugegeben, um überschüssiges Nitrit zu zerstören, da sonst störende Nitrosoverbindungen auftreten.

a) Bestimmung in Tubulusflüssigkeit:

HCl-NaNO₂: 10 ml aqua dest. + 2 ml 1.2 M HCl + 1 ml 0.0145 M NaNO₂

Ammoniumsulfamat: 0.044 M NH₄OSO₂NH₂

Farbreagenz: 0.004 M C₁₀H₇NHCH₂CH₂NH₂ · 2 HCl

Natriumnitrit wird täglich neu angesetzt, die übrigen Lösungen vierwöchentlich.

Reagenzröhrchen werden aus Kapillarglas (Innendurchmesser = 0,5 mm) hergestellt. Das Glas wird über der Flamme in Längen von 5 - 6 cm ausgezogen und die äussere Oberfläche silikonisiert.

Messpipetten werden aus Kapillarglas hergestellt. Solche mit einem Volumen von 10⁻³ ml und darüber werden mit Wasser auf der Analysenwaage geeicht, das Volumen von kleineren Pipetten wird mit Hilfe des Innendurchmessers und der Länge bestimmt.

Ausführung: Je nach der zu erwartenden Konzentration werden 5 x 10⁻⁴ - 1 x 10⁻² ml der HCl-NaNO₂ Lösung in Reagenzröhrchen

gefüllt und zwei Aliquote (10^{-5} oder 2×10^{-5} ml) der unter Öl aufbewahrten Proben dazugegeben. In einer Feuchtigkeitskammer erfolgt Mischen durch mehrmaliges Ausblasen auf Parafilm und Wiederaufsaugen. Da weder Parafilm noch die silikonisierte äussere Oberfläche des Reagenzröhrchens benetzt werden, wird keine Flüssigkeit verloren. Die Röhrchen werden mindestens 5 min in einer Feuchtigkeitskammer aufbewahrt, ehe je nach der Verdünnung $5 - 10 \times 10^{-4}$ ml Ammoniumsulfamat zugegeben werden. Nach nochmaligem Mischen und weiteren 5 min wird das gleiche Volumen Farbreagenz dazugesetzt, gemischt, und die Extinktion nach 15 min bei 546 m μ gemessen. Mit Hilfe von gleichzeitigen Messungen an Eichlösungen werden die Substanzkonzentrationen in den Proben ermittelt. Die mittlere Abweichung vom Durchschnitt der Doppelbestimmungen beträgt $\pm 1,5$ %.

b) Bestimmung im Serum:

ZnSO₄-H₂SO₄ Lösung: - ZnSO₄ 7 H₂O - 1 g
- 0.6 NH₂SO₄ - 2 ml
- ad 130 ml mit aqua dest.

NaOH - 0.75 N

Ausführung: In einer Feuchtigkeitskammer werden 10^{-3} ml Serum in 13×10^{-3} ml Zinksulfatlösung gegeben. Nach 5 min werden 10^{-3} ml Natronlauge dazugegeben und durch mehrmaliges Aufsaugen in ein Reagenzröhrchen und Wiederausblasen auf Parafilm gemischt. Danach wird die Probe in das Röhrchen eingeschmolzen und zentrifugiert. Der eiweissfreie Überstand wird nun je nach der zu erwartenden Konzentration mit aqua dest. verdünnt und 5×10^{-3} Aliquote in Reagenzröhrchen gefüllt. Nach Zugabe von 10^{-3} ml HCl und 5×10^{-4} ml NaNO₂ wird die Probe gemischt und unter Einhaltung derselben Bedingungen wie für Tubulusflüssigkeit je 5×10^{-4} ml Ammoniumsulfamat und Farbreagenz dazugegeben. Die Extinktionen

von Doppelbestimmungen werden nach 15 min mit der Mikroküvette gemessen und mit gleichzeitig bestimmten Eichlösungen verglichen.

3. Harnsäurebestimmung :

Harnsäure wurde in Tubulusflüssigkeit - 5×10^{-5} ml - und Serum - 10^{-3} ml - mit einer Modifikation der spektrophotometrischen Methode von Caraway (20) bestimmt. Das Prinzip der Methode beruht auf Entstehung einer blauen Farbe durch Reduzierung von komplizierten Phosphorwolframsäuren mit Harnsäure. Die Farbe wird in Gegenwart von Natriumcarbonat bei einem pH von 10 entwickelt.

a) Bestimmung in Tubulusflüssigkeit:

Phosphorwolframsäure: 100g $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ werden mit 800 ml aqua dest. und 80 ml 85 % H_3PO_4 versetzt und 2 Stunden gekocht. Die Lösung wird auf 1 l mit aqua dest. aufgefüllt und ist in dunkler Flasche unbegrenzt haltbar.

Natriumcarbonat: 10 g Na_2CO_3 werden mit aqua dest. ad 100 ml gebracht.

Ausführung: In Reagenzröhrchen werden 10^{-3} ml einer Mischung von 4 ml Natriumcarbonatlösung und 8 ml der 1 : 10 verdünnten Phosphorwolframsäure zu 5×10^{-5} ml der Probe gegeben und vermischt. Nach 30 min wird die entstandene blaue Farbe in dem Spektrophotometer gemessen und mit entsprechenden Eichlösungen verglichen.

b) Bestimmung im Serum:

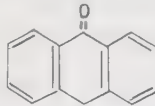
Natriumwolframatlösung: 3.2 g $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ad 100 ml mit aqua dest.

Schwefelsäure: 0.2 N H_2SO_4

Ausführung: Zur Enteiweissung werden 10^{-3} ml Serum mit je 4×10^{-3} ml Natriumwolframatlösung und Schwefelsäure vermischt und zentrifugiert. 5×10^{-3} ml des Überstandes werden mit 2×10^{-3} ml Natriumcarbonatlösung und 2×10^{-4} ml der verdünnten Phosphorwolframsäure gemischt und nach 30 min die Farbintensität wie bei Tubulusflüssigkeit gemessen.

4. Inulinbestimmung:

Inulinkonzentrationen in Perfusat und Tubulusflüssigkeit wurden mit der Methode von Hilger und Mitarbeitern (19) bestimmt. Das Prinzip beruht auf der Eigenschaft mancher Zucker, in konzentrierter Säure Furfuralderivate zu bilden. Diese reagieren mit Anthron, welches die Strukturformel



hat, und bilden Farbkomplexe von unbestimmter Zusammensetzung.

Anthronreagenz: 0.35 g Anthron werden in 125 ml konzentrierter Schwefelsäure gelöst und 50 ml aqua dest. dazugegeben, so dass die Temperatur der Lösung 30° C nicht übersteigt. Die Lösung ist 14 Tage im Kühlschrank und dunkler Flasche haltbar.

Ausführung: In ein Glasröhrchen werden 10^{-2} ml Anthronreagenz und 2×10^{-5} ml Probe eingeschmolzen, ohne den Inhalt zu erhitzen. Die Röhrchen werden zwecks Mischung mehrmals zentrifugiert und für 10 min bei 56° C im Wasserbad erhitzt. Danach wird die Extinktion in einer Platinküvette von Ullrich und Hampel (17) bei 620μ bestimmt.

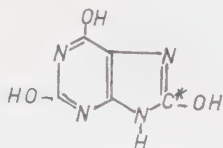
5. Lipoidlöslichkeit bei verschiedenen pH Werten:

Die Verteilung von PAH, Sulfamerazin und Harnsäure zwischen

den Perfusionslösungen pH 5 und pH 8 und Lipoid-Lösungsmitteln wurde wie folgt bestimmt: 2×10^{-3} molare Lösungen der jeweiligen Substanz in den Puffern werden mit je einem gleichen Volumen von entweder Chloroform oder Isobutanol bei 25°C für 30 min geschüttelt und die Konzentration in der wässrigen Phase mit der in ungeschütteltem Puffer verglichen. Um Volumenveränderung während der Equilibration zu vermeiden, werden Puffer und Lipoidlösungsmittel vorher gegenseitig abge.ättigt.

C. Radioaktive Bestimmungen

Die Radioaktivität von C-14 markierter PAH



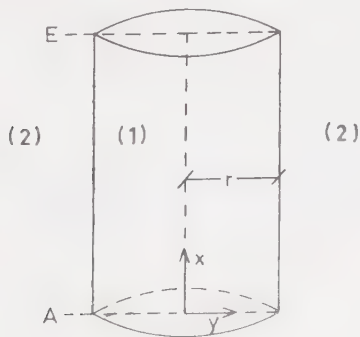
wurde mit einem Packard Tricarb Scintillationsgerät gemessen. 2×10^{-5} ml Probe werden mit 1 ml aqua dest. verdünnt und 10 ml der Scintillationsflüssigkeit, bestehend aus 100 g Naphthalin, 10 g 2.5-Diphenyloxazol, 0,25 g 1,4-bis-2-(4-Methyl-5-Phenyloxazolyl)-Benzene pro 1 Dioxan, dazugegeben. Die Aktivität in cpm wird nach Abziehen des Leerwertes errechnet. Aus der prozentualen Aktivitätsdifferenz zwischen Perfusat und Tubulusflüssigkeit und aus der Ausgangskonzentration im Perfusat wird die Konzentrationsänderung der radioaktiven Substanz in den Proben bestimmt.

ERGEBNISSE

A. Sulfamerazin

1. Reabsorption:

Die pH-Abhängigkeit der Reabsorption von Sulfamerazin wurde mit der beschriebenen Perfusionsmethode am proximalen Konvolut der Rattenniere untersucht. Die Ergebnisse (Anhang, Tab. I) von 38 Mikroperfusionen mit "Gleichgewichtslösung pH 5" und 25 Perfusionen mit "Gleichgewichtslösung pH 8" an insgesamt 18 Ratten sind in Abb. 4 zusammengestellt. Für beide Versuchsserien besteht eine deutliche Beziehung zwischen dem prozentualen Abfall der Ausgangskonzentration des Sulfonamids im Perfusat und der durchströmten Länge des proximalen Konvoluts. (Abb. 4a) Der Konzentrationsabfall ist bei Durchströmung mit niedrigem pH stärker als bei hohem, und zwar ist bei pH 5 die Ausgangskonzentration schon nach einer durchströmten Strecke von $360\ \mu$ auf die Hälfte abgesunken, während bei pH 8 für die gleiche Änderung eine Strecke von $870\ \mu$ erforderlich ist. Der exponentielle Verlauf der Kurven zeigt sich in einer linearen Beziehung zwischen dem Logarithmus der relativen Konzentrationen und der Länge des durchströmten Tubulussegments (Abb. 4b). Die Ergebnisse sind deshalb mit passiver Diffusion infolge eines Konzentrationsgradienten zwischen Lumen und Interstitium vereinbar. Die transtubuläre Permeabilitätskonstante bei pH 5 und pH 8 für Sulfamerazin kann folgendermaßen errechnet werden (ausführliche Berechnung siehe Anhang).



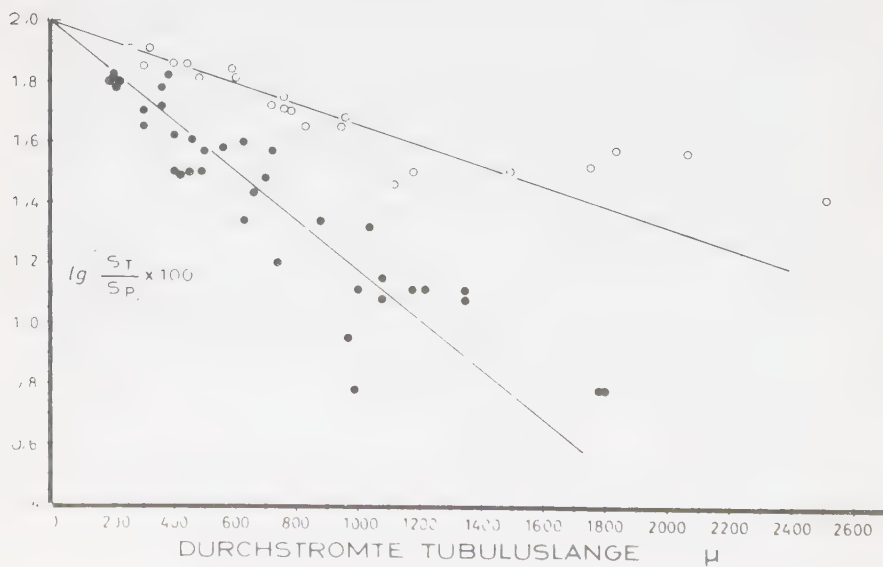
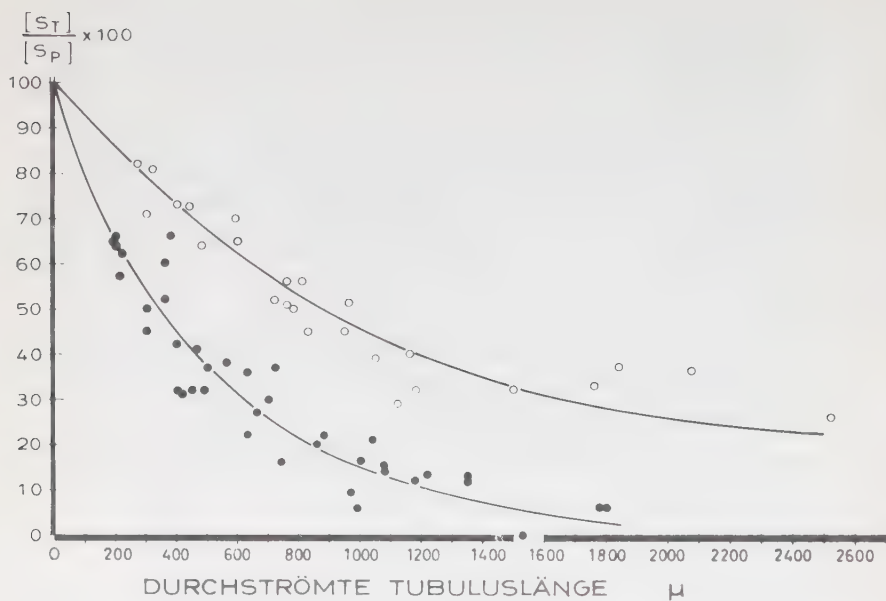


Abb. 4: Reabsorption von Sulfamerazin im proximalen Tubulus bei Durchströmung bei pH 5 (Punkte) und pH 8 (Kreise).

4a: Beziehung zwischen dem Konzentrationsverhältnis Tubulus zu Perfusat und der durchströmten Tubulusstrecke in μ . S_T = die Konzentration in Millimol pro Liter, die in dem Perfusat nach Durchströmung bestimmt wurde. S_P = die Konzentration des Sulfonamids, die dem Perfusat zugesetzt wurde - die Ausgangskonzentration in der Perfusionsflüssigkeit.

4b: Beziehung zwischen dem dekadischen Logarithmus des Konzentrationsverhältnisses aus Abb. 4a und der durchströmten Tubuluslänge.

Da bei Durchströmung mit Gleichgewichtslösungen kein transtubulärer Nettowasserfluß entsteht, ist der Substanzfluß $\phi_1(x)$ in dem Lumen (Raum 1) des skizzierten Tubulus von A nach E in x-Richtung durch die Gleichung

$$\phi_1(x) = v_1 \cdot c_1(x) \quad (a)$$

gekennzeichnet, in der v_1 und $c_1(x)$ die lineare Perfusionsgeschwindigkeit und Konzentration des Stoffes in Raum 1 bedeuten. Für den Fluß $\phi_{1,2}(x)$ von dem Lumen in das Interstitium (Raum 2) in y-Richtung gilt die Gleichung

$$\phi_{1,2}(x) = P_{1,2}(c_1(x) - c_2(x)) \quad (b)$$

worin $P_{1,2}$ = die transtubuläre Permeabilitätskonstante und $c_2(x)$ = die Konzentration des Stoffes in Raum 2 sind. Weiterhin gilt die Bilanzgleichung

$$-\pi r_1^2 \cdot \phi_1(x) = 2\pi r_1 \int \phi_{1,2}(x) dx \quad (c)$$

in der r_1 der Radius des Tubulus ist. Unter der Annahme, daß c_2 konstant bleibt, erhält man aus den drei Gleichungen die allgemeine Lösung

$$c_1(x) = K \cdot e^{-\left(\frac{2P_{1,2}}{v_1 r_1}\right) \cdot x} + c_2 \quad (d)$$

in der K die Integrationskonstante ist und die übrigen Symbole ihre obigen Bedeutungen beibehalten.

Unter den gewählten Versuchsbedingungen ist die Konzentration des Sulfonamids in dem Interstitium vernachlässigbar klein, da die geringen Mengen der durch die Tubuluswand tretenden Substanz von dem Blutstrom sofort weggeschwemmt werden. An der Stelle A ($x = 0$) ist die Konstante gleich der Substanzkonzentration am Ausgangspunkt ($K = c_a$), und Gleichung (d) für die Versuchsbedingungen lautet:

$$P_{1,2} = v_1 \cdot \frac{r_1}{2} \cdot \frac{1}{x} \cdot \ln \frac{c_a}{c_e} \quad (e)$$

worin c_e die Konzentration am Ende E der durchströmten Strecke ist.

Da die lineare Perfusionsgeschwindigkeit v_1 der Pumpe bekannt ist, und der Durchmesser $2r$ und die Länge x des Tubulus, sowie die Anfangs- und Endkonzentrationen c_a und c_e gemessen wurden, ist die Auflösung der Gleichung (e) nach $P_{1,2}$ möglich. Die auf diese Weise errechneten Permeabilitätskonstanten betragen für die Reabsorption von Sulfamerazin bei pH 5 = 0,614 mm/min und bei pH 8 = 0,252 mm/min.

Der pK_a Wert für die Dissoziation des H-Ions an der $-SO_2-NH-$ Gruppe des Sulfonamides ist 6,98. Bei pH 5 ist also die Säure zu 99% undissoziiert, während bei pH 8 der dissoziierte Teil mit 91,4% überwiegt. Wenn die Permeabilitätsunterschiede auf unterschiedlichen Verteilungskoeffizienten und Wanderungsgeschwindigkeiten des ionisierten und nicht ionisierten Anteils in einer lipoiden Phase der Tubuluswand beruhen, sollte auch die Lipidlöslichkeit mit Absinken des pH-Wertes zunehmen. Um diese Annahme zu prüfen, wurden die Löslichkeiten bei den beiden pH-Werten in verschiedenen Lipoidlösungsmitteln mit der beschriebenen Methode untersucht. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Lösungsmittel	Dielektrizitätskonstante	pH	Löslichkeitsverhältnis (Lipoid/Puffer) · 100
Toluol	2,4	5	58
		8	1
Chloroform	4,8	5	73
		8	34
Äthylendichlorid	10,4	5	78
		8	47
Isobutanol	17,7 - 20,0	5	80
		8	53

Die Lipidlöslichkeit des Sulfamerazins steigt mit zunehmender

Dielektrizitätskonstante des Lösungsmittels, ist jedoch in jedem Falle bei pH 5 größer als bei pH 8. Dieser Befund stützt die Hypothese der "non-ionic diffusion", nämlich, daß die gefundenen transtubulären Permeabilitätsunterschiede auf der größeren Löslichkeit des nicht ionisierten Anteils der organischen Säure in einer lipoiden Phase der Zellmembran beruhen.

2. Sekretion:

Um den Transport von Sulfamerazin von Interstitium zu Tubuluslumen zu bestimmen, wurden 36 Mikroperfusionen an 9 Ratten vorgenommen (Anhang, Tab. II). Eine Sulfamerazin-enthaltende Lösung wurde intravenös infundiert, und nach Perfusion des proximalen Konvoluts mit Sulfamerazin-freier Gleichgewichtslösung die Konzentration im Perfusat bestimmt. Bei Serumkonzentrationen bis zu 2.5 mM/l waren in der Perfusionsflüssigkeit keine oder nur sehr geringe, in der Fehlerbreite der Bestimmung liegende, Konzentrationen des Sulfonamids zu messen. Eine Abhängigkeit der Konzentration von durchströmter Länge oder pH konnte deshalb nicht ermittelt werden.

Um eine durch Zellenergie aufrechterhaltene Undurchlässigkeit der Membran von Interstitium zu Lumen auszuschließen, wurde in einem Versuch 10^{-4} M/l NaCN zu der Perfusionslösung gegeben. Diese Konzentration ist ausreichend, um den Stoffwechsel der Zellen des durchströmten Tubulus zu unterbinden (21); jedoch wurde keine höhere intratubuläre Sulfamerazinkonzentration gefunden als in den übrigen Versuchen. Auch Konzentrationsmessungen an 18 aus dem proximalen Tubulus unter freien-Flußbedingungen entnommenen Filtratproben ergaben in den 6 untersuchten Ratten keine erkennbaren Differenzen zu den Perfusionen.

Da Sulfamerazin bis zu 80% an Plasmaeiweißkörper gebunden

wird und somit nicht zur Ultrafiltration im Glomerulum zur Verfügung steht, ist die niedrige intratubuläre Konzentration unter freien-Fluß- und Perfusionsbedingungen durch transtubuläre Diffusion des relativ geringen nicht gebundenen Anteils des Gesamt-Sulfamerazins im Blut zu erklären. Diese Annahme konnte jedoch nicht direkt geprüft werden, da Versuche, die Gesamtkonzentration und somit die Konzentration des freien Anteils im Blut weiter zu erhöhen, an der begrenzten Löslichkeit des Sulfonamids in der Infusionslösung scheiterten.

B. Harnsäure

1. Reabsorption:

Die Reabsorption von Harnsäure wurde mit der gleichen Methode wie für Sulfamerazin bestimmt. Da Harnsäure als Metabolit in dem Blutplasma vorhanden ist, wurde dem Perfusat C^{14} -markierte Säure in einer Konzentration von 0,57 bis 2,14 mM/l zugesetzt, um die Bedingung $c_2 = 0$ zu erfüllen. Die Reabsorptionsmessungen wurden zum Teil bei gleichzeitiger intravenöser Infusion von nichtmarkierter Harnsäure durchgeführt (Anhang, Tab. III und IV). Die Ergebnisse von 26 Mikroperfusionen an 6 Ratten bei pH 5 und 49 Perfusionen an 9 Ratten bei pH 8 sind in Abb. 4 zusammengestellt. Auch in diesen Versuchen besteht ein anscheinend exponentieller Konzentrationsabfall (Abb. 5a), der bei den beiden pH-Werten unterschiedlich ist. Abb. 5b bestätigt die Exponentialfunktionen. Die Abweichung von der Geraden in sehr langen Perfusionsstrecken bei Durchströmung mit pH 8 ist wahrscheinlich auf Grund von tubulärer H-Ionen Sekretion und Übersteigung der Pufferkapazität der Gleichgewichtslösung zu erklären.

Im Vergleich zu der Reabsorption von Sulfamerazin ist der Abfall der Harnsäurekonzentration pro perfundierter Strecke weitaus geringer. Die extrapolierten Halbwertslängen liegen mit 2600μ (pH 8)

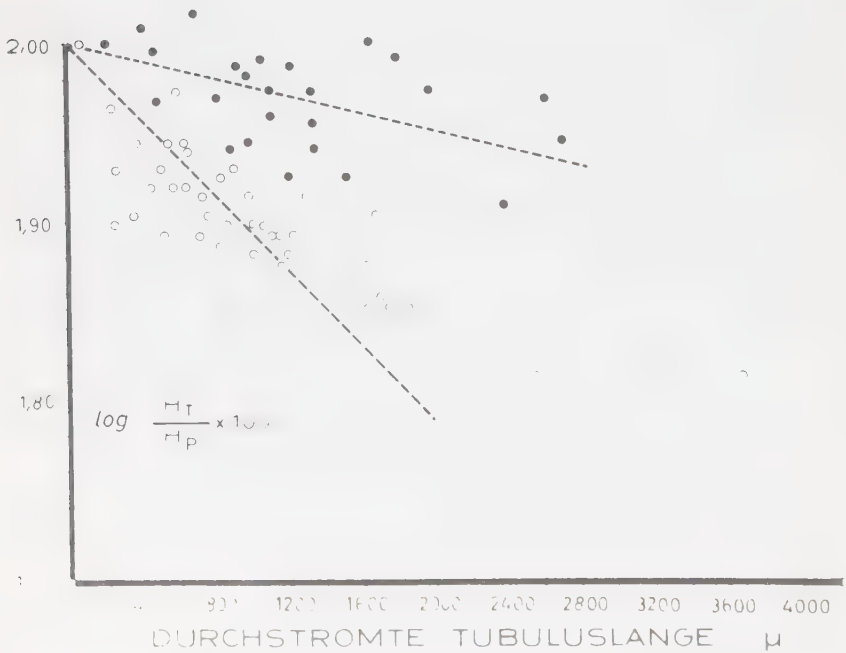
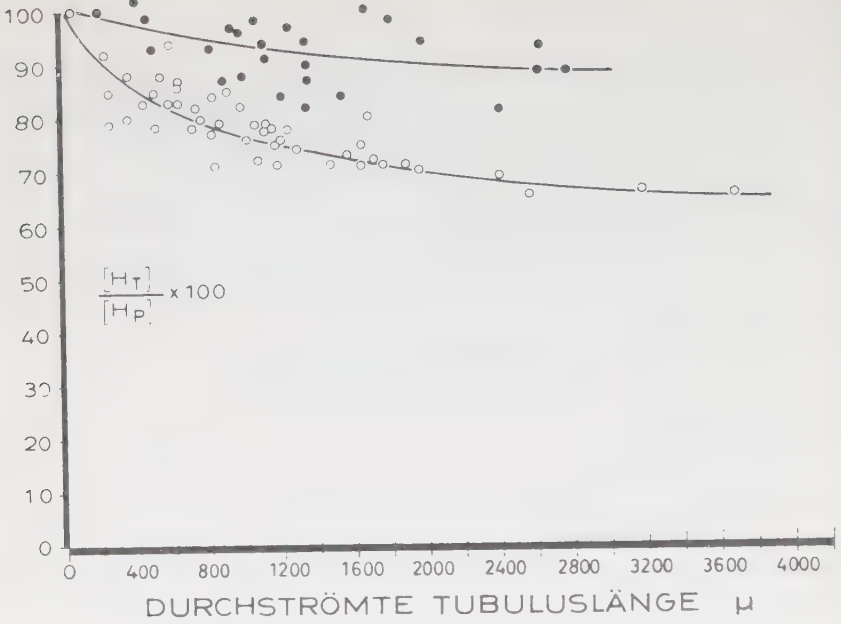


Abb. 5: Reabsorption von Harnsäure im proximalen Tubulus bei Durchströmung bei pH 5 (Punkte) und pH 8 (Kreise).

5a: Beziehung zwischen dem Konzentrationsverhältnis Tubulus zu Perfusat und der durchströmten Länge in μ . H_T = die nach Durchströmung gemessene Harnsäurekonzentration im Perfusat, H_P = die Harnsäurekonzentration von Harnsäure im Perfusat.

5b: Beziehung zwischen dem Logarithmus des Konzentrationsverhältnisses und der durchströmten Länge. Im Vergleich zu Abb. 4b ist die Skala der Ordinate vergrößert, die der Abszisse verkleinert.

und 12000μ (pH 5) erheblich über den für das Sulfonamid bestimmten Strecken. Ein zweiter auffallender Unterschied ist die größere Reabsorption der Harnsäure bei pH 8 als bei pH 5. Nach dem Dissoziationsgrad der Harnsäure - pH 5 = 13%, pH 8 = 99% - und der Hypothese der "non-ionic diffusion" ist auch bei dieser Substanz ein Anstieg der Lipidlöslichkeit, und damit der transtubulären Permeabilität mit Abnahme des pH zu erwarten. In Löslichkeitsbestimmungen konnte jedoch weder bei pH 5 noch bei pH 8 eine Harnsäure-Aufnahme in die verschiedenen Lipid-Lösungsmittel bewiesen werden. Aus diesem Ergebnis und den nach Gleichung (e) errechneten transtubulären Permeabilitäten - $P_{1,2}(\text{pH } 5) = 0.018 \text{ mm/min}$, $P_{1,2}(\text{pH } 8) = 0.085 \text{ mm/min}$ - darf man schließen, daß für Harnsäure keine Diffusion durch eine lipide Phase der Zellmembran besteht. Da bei Harnsäure, wie auch bei anderen organischen Säuren, das Anion wasserlöslicher ist als das undissoziierte Molekül, kann, in umgekehrter Analogie zu der Lipid-Löslichkeit, die Möglichkeit bestehen, daß der ionisierte Anteil leichter in eine zweite wässrige Lösung diffundiert. Die Zunahme der Reabsorption bei pH 8 könnte somit durch gesteigerte Diffusion des Anions in eine pH-konstante wässrige Phase der Zellmembran erklärt werden.

2. Sekretion:

Untersuchungen zur tubulären Sekretion von Harnsäure wurden bei gleichzeitiger Bestimmung der Reabsorption durchgeführt, indem während intravenöser Harnsäure-Infusion Teile des proximalen Konvoluts mit einem Perfusat durchströmt wurden, das radioaktiv markierte Harnsäure enthielt (Anhang, Tab. IV). Die Gesamtkonzentration vor und nach Perfusion verschieden langer Tubulusstrecken wurde chemisch bestimmt, und aus der Differenz zwischen der chemischen und radioaktiven Konzentrationsmessung die Konzentration der in den Tubulus transportierten, nicht markierten Harnsäure errechnet. In 16 Mikroperfusionsen an 5 Ratten bei pH 8 wurde keine eindeutige Sekretion

gefunden. Die geringen Abweichungen von der mit radioaktiven Methoden bestimmten C^{14} -Harnsäurekonzentration sind möglicherweise auf die Fehlerbreite der chemischen Messmethode zurückzuführen. Aus dem gleichen Grunde wie für Sulfamerazin - der begrenzten Löslichkeit in der Infusionslösung - konnte der transtubuläre Konzentrationsgradient Interstitium : Lumen nicht weiter erhöht werden. Unter den Versuchsbedingungen ist also im proximalen Konvolut der Rattenniere eine mögliche Sekretion von Harnsäure nicht so groß, als daß sie mit der angewandten Methode erfassbar wäre.

C. p-Aminohippursäure

1. Reabsorption:

Zur Bestimmung der Reabsorption von p-Aminohippursäure (PAH) wurde dem Perfusat C^{14} - markierte PAH in Konzentrationen von 2.01 bis 2.58 mM/l zugesetzt und die Konzentrationsänderungen nach Durchströmung verschiedener Tubuluslängen bestimmt (Anhang, Tab. V). Die Versuche wurden bei gleichzeitiger intravenöser Infusion von nicht markierter PAH unternommen, da keine Unterschiede in der Reabsorption von C^{14} - PAH bei Tieren mit, und solchen ohne PAH im Blutplasma gefunden wurden. Abb. 6 zeigt die Ergebnisse von 33 Perfusionen an 6 Ratten bei Durchströmung bei pH 5, und 23 Perfusionen an 5 Ratten bei pH 8. Trotz der Streuung der Werte ist wie für Sulfamerazin und Harnsäure ein pH- und längenabhängiger Konzentrationsabfall zu erkennen (Abb. 6a). Die logarithmische Auftragung (Abb. 6b) zeigt, daß in Analogie zur Harnsäure-Reabsorption die Konzentration bei pH 8 steiler absinkt als bei pH 5. Die extrapolierten Halbwertslängen, 8750 μ bei pH 5 und 3350 μ bei pH 8, haben die gleiche Größenordnung wie die der Harnsäure. Auch die nach Gleichung (e) errechneten Permeabilitäten - $P_{1,2}(\text{pH } 5) = 0.024 \text{ mm/min}$, $P_{1,2}(\text{pH } 8) = 0.062 \text{ mm/min}$ - sind vergleichbar.

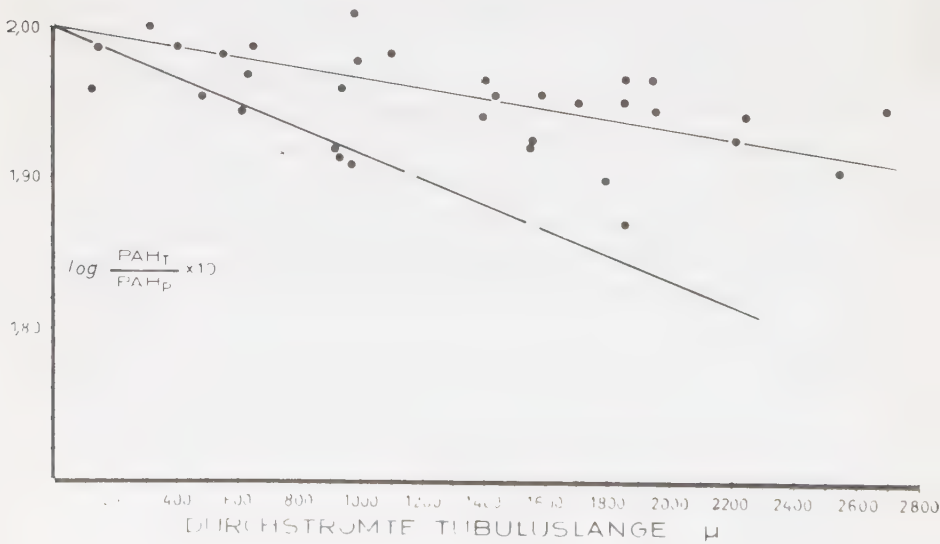
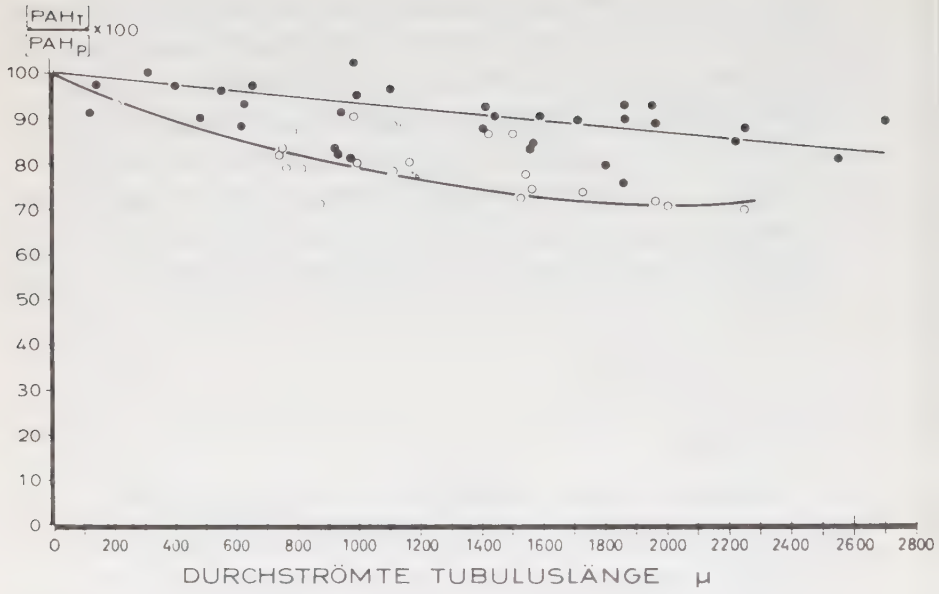


Abb. 6: Reabsorption von p-Aminohippursäure im proximalen Tubulus bei Durchströmung bei pH 5 (Punkte) und pH 8 (Kreise).

6a: Beziehung zwischen dem Konzentrationsverhältnis Tubulus zu Perfusat von PAH und der durchströmten Länge in μ

PAH_P und PAH_T sind die Konzentrationen in Millimol pro Liter vor und nach Durchströmung einzelner Tubulusstrecken.

6b: Beziehung zwischen dem Logarithmus des Konzentrationsverhältnisses und der durchströmten Länge. Abszissenskala wie in Abb. 4, Ordinaten-einteilung wie in Abb. 5b.

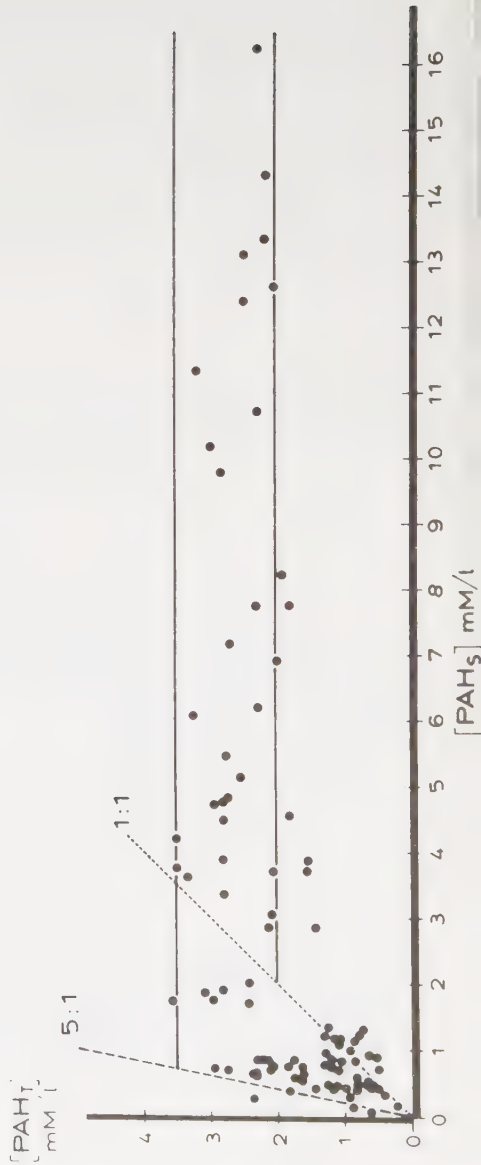
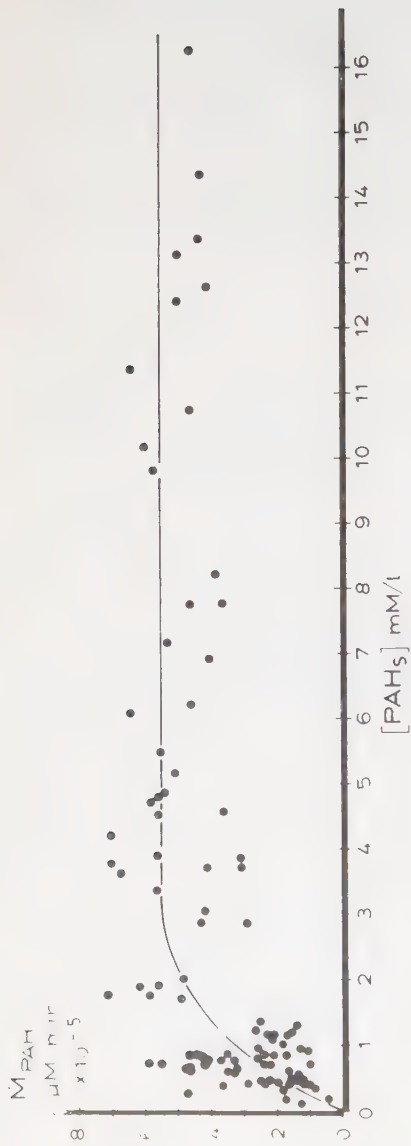


Abb. 7: Sekretion von p-Aminohippursäure im proximalen Konvolut bei Durchströmung mit ungepufferter Gleichgewichtslösung nach intravenöser Gabe von PAH.

7a: Beziehung zwischen der sezernierten Menge und der Serumkonzentration. Die transportierte Menge wurde aus der Konzentrationsbestimmung im Perfusat und der Perfusionsrate der Pumpe errechnet.

7b: PAH-Konzentration in aus dem Tubulus entnommenem Perfusat, aufgetragen gegen die Konzentration im Blutplasma. Die Kurve behält das gleiche Aussehen wie in Abb. 7a, da die Perfusionsrate konstant ist. Die gestrichelten Linien zeigen ein Konzentrationsverhältnis Tubulus zu Plasma von 5:1 bzw. 1:1 an; die ausgezogenen Linien umfassen den Bereich der konstanten intratubulären PAH-Konzentration.

Trotzdem eine Löslichkeit von PAH in Isobutanol bei pH 5 nachgewiesen werden konnte - Löslichkeitsverhältnis (pH 5) = 25%, (pH 8) = 1% - ist der Mechanismus der "non-ionic diffusion" durch die lipide Phase der Tubuluswand nicht für die gemessene Reabsorption verantwortlich. Wie für Harnsäure könnte auch hier der Permeabilitätsunterschied auf Diffusion des Anions in einer wässrigen Phase beruhen. PAH jedoch, mit dem pK_a von 3.83, ist auch bei pH 5 noch zu 99.3% dissoziiert. Die gefundenen Permeabilitätsdifferenzen sind deshalb nicht auf den Grad der Ionisierung zurückzuführen. Als Alternative ist eine Änderung der Membrandurchlässigkeit durch die H-Ionenkonzentration per se anzunehmen. Diese Annahme wird durch Versuche gestützt, in denen mit ungepufferten, PAH-enthaltenden Lösungen durchströmt wurde. Bei dem durch die organische Säure hervorgerufenen pH von weniger als 4.0 war unter Berücksichtigung der Streubreite der Messungen keine Reabsorption festzustellen, obwohl die PAH zu ungefähr 50% als undissoziiertes Molekül vorlag.

2. Sekretion:

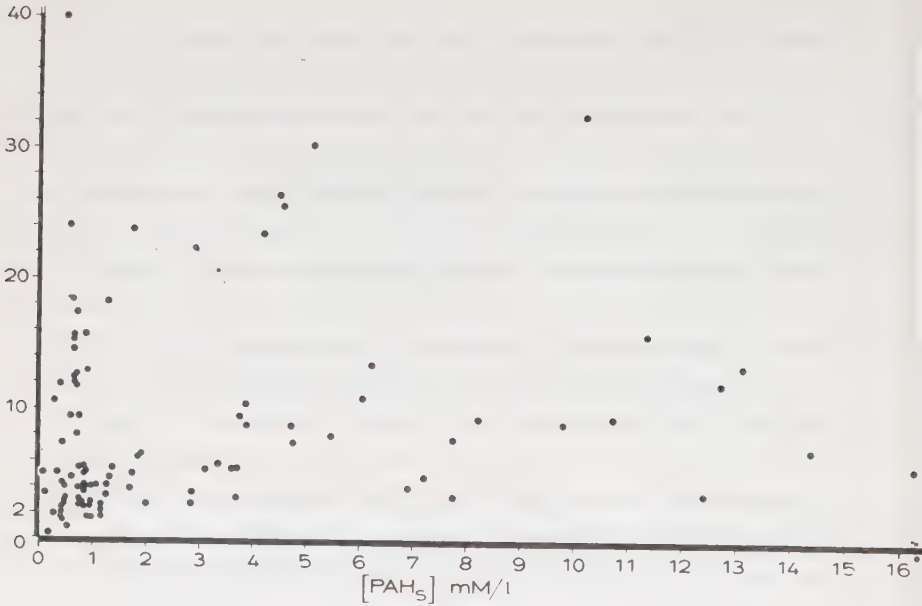
101 Mikroperfusionsen mit ungepufferter Gleichgewichtslösung wurden an 28 Ratten bei unterschiedlicher PAH-Konzentration im Blutplasma durchgeführt (Anhang, Tab. VI). Die in den Tubulus hineintransportierten Mengen wurden aus Konzentration und Perfusionsrate errechnet (Berechnungsbeispiel siehe Anhang). Die Beziehung zwischen PAH-Konzentration im Blutplasma und der sezernierten Menge (Abb. 7a) weist große Ähnlichkeit mit dem Verlauf einer Sekretionskurve in Clearancebestimmungen auf. Auch hier nehmen die sezernierten Mengen mit steigendem Angebot der Substanz zunächst zu, um dann einen relativ konstanten maximalen Endwert zu erreichen. Aus Abb. 7b, welche die Relation zwischen intra- und extratubulärer Konzentration von PAH darstellt, ist ersichtlich, daß in dem Bereich niedriger Plasmakonzentrationen das Verhältnis Lumen : Plasma bis auf das 5-fache ansteigen

kann, wie durch gestrichelte Linien angedeutet ist. Mit zunehmender Plasmakonzentration sinkt das Verhältnis unter 1:1 ab.

Diese Ergebnisse weisen jedoch einen entscheidenden Unterschied zu der Sekretionstheorie von Smith (6) auf. Nach seiner Vorstellung ist das Transportmaximum durch die begrenzte Anzahl der am Sekretionsprozess beteiligten Tubuluszellen bedingt; es müßte in diesen Versuchen also ein längenabhängiger Transport nachzuweisen sein. In den Experimenten wurden Abschnitte proximaler Konvolute zwischen 100 und 2800 μ Länge perfundiert, doch ist die Sekretion unabhängig von der durchströmten Strecke des Tubulus. Dieser Befund wird in Abb. 8a deutlich. Die gleichen Werte wie in Abb. 7 wurden hier, auf die durchströmte Fläche bezogen, gegen die Plasmakonzentration aufgetragen. Im Gegensatz zu der ersten Auftragung ist zwischen PAH-Konzentration im Plasma und dem Transport pro Fläche und Zeit keine Beziehung zu erkennen. Aus Abb. 7b ist ersichtlich, daß die PAH-Sekretion nach Erreichen einer bestimmten intratubulären Konzentration aufhört. Wenn eine Flächenabhängigkeit des Transportes besteht, müßte sie in dem Bereich, in dem das Konzentrationsverhältnis Tubulus : Plasma über 1 liegt, zum Ausdruck kommen. Wie Abb. 8b darstellt, besteht aber auch hier keine Beziehung zwischen dem Konzentrationsverhältnis und der durchströmten Tubulusstrecke. Da die Reabsorption von PAH selbst bei pH 8 bei weitem nicht ausreichend ist, um die konstante intratubuläre Konzentration auf Grund eines Gleichgewichtes zwischen Ein- und Ausstrom zu erklären, bleibt die Deutung, daß der Transport durch die PAH-Konzentration im Tubulus begrenzt wird.

Um den Transportmechanismus näher zu untersuchen wurden 20 Mikroperfusionen bei pH 5 und 18 Perfusionen bei pH 8 an insgesamt 11 Ratten durchgeführt (Anhang, Tab. V). Dem Perfusat wurde C^{14} -markierte PAH in einer Menge zugesetzt, welche der aus den Sekretionsversuchen bestimmten intratubulären Maximalkonzentration entsprach.

$\dot{M}_{PAH/A}$
 $\mu M/min/cm^2 \times 10^{-2}$



$\frac{[PAH_T]}{[PAH_S]}$

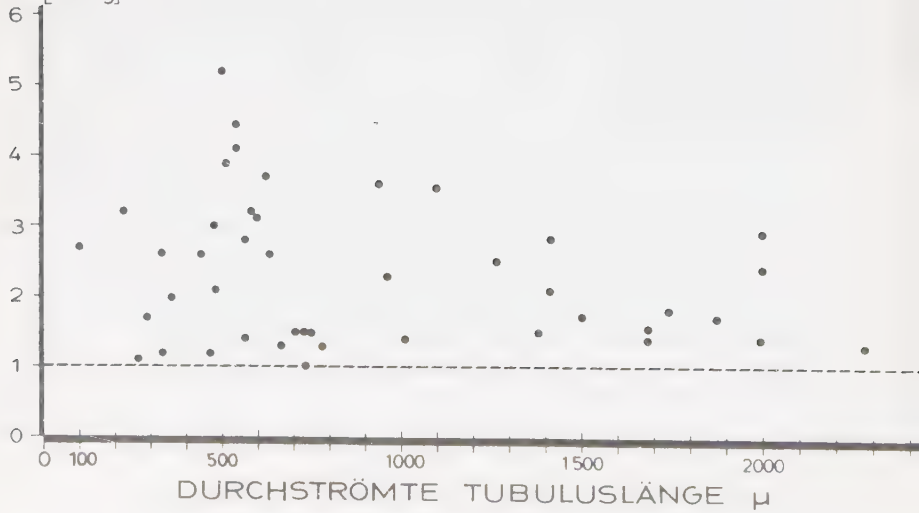


Abb. 8a: PAH-Transport pro Fläche der durchströmten Tubulusstrecke, aufgetragen gegen die Konzentration im Serum.

Abb. 8b: PAH-Konzentrationsverhältnis Lumen zu Plasma, aufgetragen gegen die durchströmte Tubulusstrecke, bei aktiver Sekretion. Die gestrichelte Linie stellt das Konzentrationsverhältnis 1:1 dar.

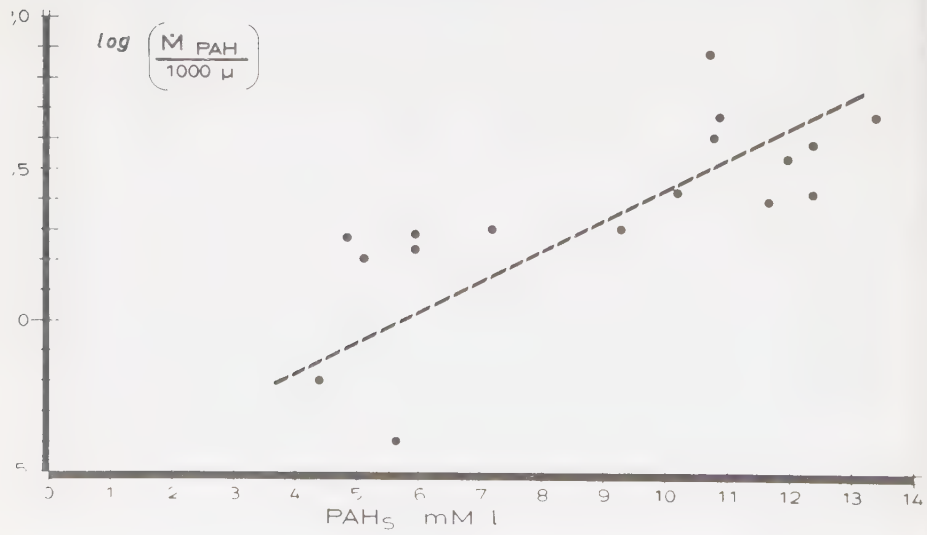
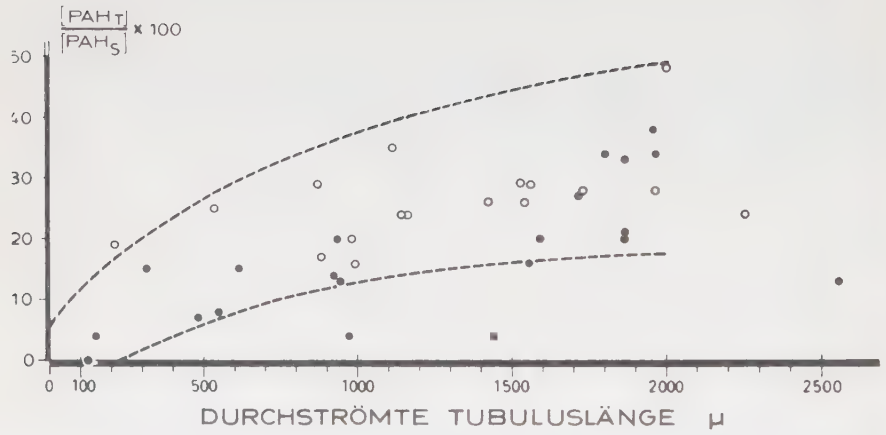


Abb. 9a: Längenabhängigkeit der PAH-Sekretion bei pH 5 (Punkte) und pH8 (Kreise) bei Durchströmung mit PAH-enthaltenden Lösungen. Die drei herausfallenden Punkte gehören demselben Versuch an.

Abb 9b: Abhängigkeit des Logarithmus der pro Länge sezernierten PAH von der Konzentration im Serum bei Durchströmung bei pH 5. Die in Abb. 9a herausfallenden Punkte wurden in dieser Auftragsung nicht berücksichtigt.

Die während der Passage durch den Tubulus zusätzlich in das Perfusat sezernierte p-Aminohippursäure wurde aus der chemischen Bestimmung der Gesamtkonzentration und dem radioaktiv markierten Anteil errechnet. Im Gegensatz zu den vorigen Sekretionsversuchen wurde unter diesen Bedingungen eine geringere Sekretion gefunden. Eine zweite Feststellung war eine Abhängigkeit der sezernierten Menge von der Länge des durchströmten Tubulus. In Abb. 9a ist die Beziehung zwischen dem PAH-Konzentrationsverhältnis Tubulus : Plasma und der perfundierten Strecke aufgetragen. Die drei herausfallenden Punkte gehören demselben Versuch an und könnten einen individuellen Unterschied dieser Ratte zu den anderen darstellen. Wie man bereits aus dieser Abbildung erkennt, ist das Verhältnis im Mittel bei Durchströmung bei pH 8 bei gleichen Perfusionsstrecken höher als bei pH 5. Diese Beziehung tritt noch deutlicher hervor, wenn man die Mengen der pro Flächeneinheit in den Tubulus hin- eintransportierten PAH bei gleichen Serumkonzentrationen miteinander vergleicht. Bei Konzentrationen im Blutplasma zwischen 4 und 7 mM/l ist der Mittelwert von Bestimmungen der pro Fläche sezernierten PAH bei pH 8 $\approx 4.8 \mu\text{M}/\text{cm}^2/\text{min} \cdot 10^{-2}$ und bei pH 5 $\approx 3.0 \mu\text{M}/\text{cm}^2/\text{min} \cdot 10^{-2}$.

Die Hypothese, daß es sich bei dem Einstrom wie bei der Reabsorption um eine passive Diffusion handelt, wird durch die lineare Abhängigkeit des Logarithmus der PAH-Sekretion pro perfundierter Länge von der PAH-Konzentration im Plasma gestützt (Abb. 9b). Allerdings ist diese Beziehung nur bei Durchströmung bei pH 5 darstellbar, da nur in dieser Versuchsserie der PAH-Spiegel im Serum zwischen 4 und 13 mM/l variiert wurde, während er bei Durchströmung bei pH 8 nur zwischen 3 und 7 mM/l liegt. Auch die Sekretion scheint also auf Grund einer passiven Diffusion zu erfolgen, wenn im Perfusat schon eine bestimmte Konzentration vorgegeben wird. Mit $0.17 \mu\text{M}/1000\mu/\text{min}$ liegt sie bei einem Ausgangsgradienten Plasma : Tubulus von 2 mM/l in derselben Größenordnung wie die Transportrate in umgekehrter Richtung - $0.3 \mu\text{M}/1000\mu/\text{min}$ - bei diesem Gradienten. Genauere Berechnungen

der Permeabilität sind jedoch wegen der Streubreite dieser Messungen ungerechtfertigt.

Die Ergebnisse der PAH-Sekretionsversuche sind in Abb. 10 noch einmal schematisch zusammengefaßt. Die durchgezogene Linie stellt die Sekretion bei Perfusion mit PAH-freier Lösung, die gestrichelte Linie die Sekretion bei pH 5 mit PAH-enthaltender Lösung dar. Zu Vergleichszwecken wurde der längenabhängige Transport der zweiten Versuchsserie auf eine Perfusionstrecke von 1000 μ bezogen, da die durchströmten Längen der ersten Serie sich um diesen Wert gruppieren. Außerdem wurde die zweite Kurve um 2,75 mM/l nach rechts verschoben um die Diffusion bei gleichem Gradienten wie dem in der ersten Versuchsreihe zu ermitteln. Wie aus dem Schema hervorgeht, tritt eine meßbare passive Diffusion in das Tubuluslumen praktisch nur bei hohen Serumkonzentrationen auf. Bei kurzen Perfusionstrecken fällt auch hier die Diffusion weniger in das Gewicht, bei langen Strecken ist eine höhere intratubuläre Konzentration zu erwarten. Da die Sekretionsversuche der ersten Serie mit ungepufferten Lösungen, also bei niedrigem pH, durchgeführt wurden, ist das Fehlen des Konzentrationsanstiegs bei hohen Plasmawerten durch geringere Permeabilität der Tubuluswand als bei pH 5 für die passiv diffundierende PAH zu erklären.

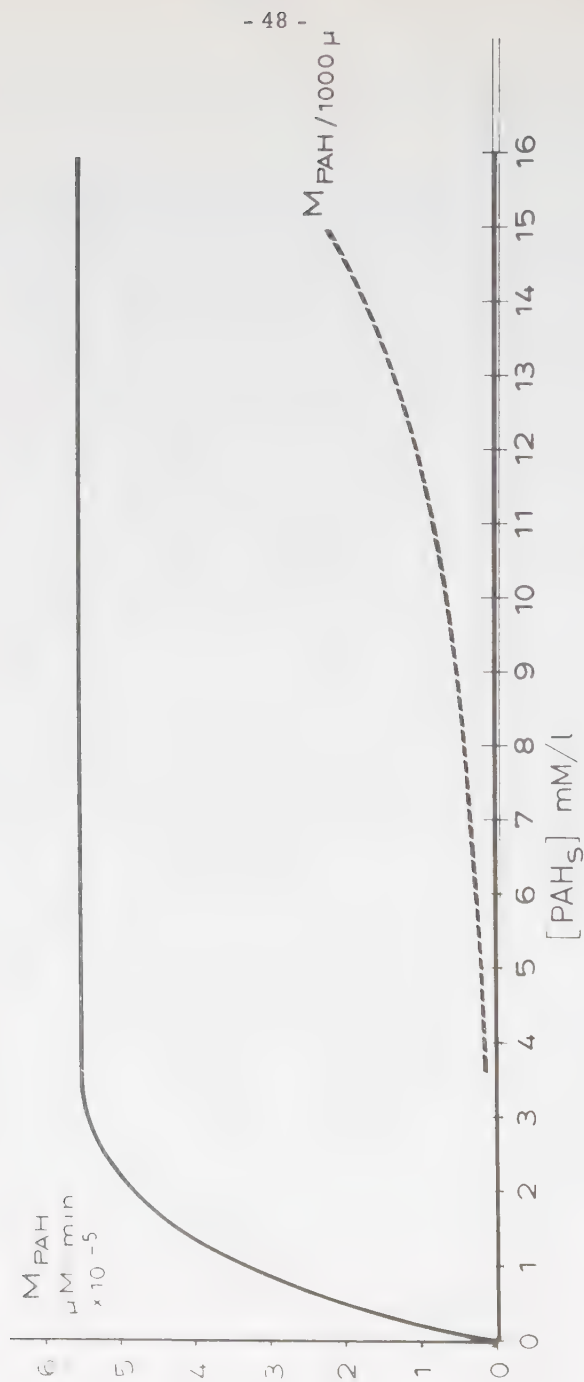


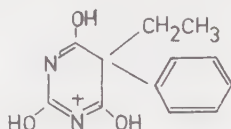
Abb. 10: Schema der PAH-Sekretion bei Durchströmung mit PAH-freien (durchgezogene Linie) und PAH-enthaltenden Lösungen (gestrichelte Linie). Erklärung siehe Text.

DISKUSSION

A. Sulfamerazin

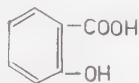
Frühere Untersuchungen über den renalen Ausscheidungsmechanismus von einigen organischen Säuren ergaben Befunde, die mit der einfachen Transporttheorie von Smith (6) - Filtration der Substanz im Glomerulum mit zusätzlicher Sekretion oder Reabsorption durch die Tubuluswand - nicht vereinbar sind.

So untersuchten Waddell und Butler (22) die Ausscheidung von Phenobarbital (5,5-Phenyläthyl-2,4,6-Trihydroxypyrimidin)



einer schwachen organischen Säure mit dem pK_a von 7.2. Die Ausscheidung dieser Substanz steigt stark an, wenn der Urin durch intravenöse Infusion von Natriumbicarbonat alkalisch gemacht wird, und zwar wurde das Zehnfache der Ausscheidung im sauren Urin gemessen. Die ausgeschiedene Menge war jedoch in jedem Fall kleiner als die filtrierte Menge. Dies Ergebnis kann mit der Smith'schen Theorie nicht erklärt werden. Die Befunde werden so gedeutet, daß eine Rückdiffusion des lipoidlöslichen, nicht ionisierten Anteils durch die Zellmembran stattfindet. Bei niedrigem pH liegt Phenobarbital zum größten Teil in nicht ionisierter Form vor. Die Rückdiffusion aus dem Tubulus in das Interstitium ist deshalb größer als bei hohem pH, bei dem die Substanz zum größten Teil ionisiert ist.

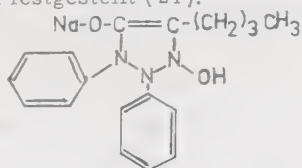
Untersuchungen mit Salizylsäure (o-Hydroxybenzoesäure)



ergaben ähnliche Befunde. So bestimmten Yü und Mitarbeiter (23)

die Menge der im Glomerulum filtrierte Salizylsäure unter Berücksichtigung des für die Filtration nicht zur Verfügung stehenden, an Plasmaproteine gebundenen Anteils. Außerdem bestimmten sie die ausgeschiedene Substanzmenge und fanden, daß bei niedrigem Urin-pH weniger Salizylsäure ausgeschieden als filtriert wird, daß aber nach Bicarbonatinfusion mehr Salizylsäure ausgeschieden als filtriert wird. Zusätzlich zu einem tubulären Sekretionsmechanismus wird auch für diese Substanz eine Rückdiffusion auf Grund der Lipoidlöslichkeit des nicht ionisierten Anteils angenommen, obwohl wegen dem niedrigen pK_a von 3,0 die Salizylsäure auch bei stark saurem Urin noch zu 90% dissoziiert ist.

Eine pH-abhängige Ausscheidung wurde auch bei einigen Phenylbutazonderivaten festgestellt (24).



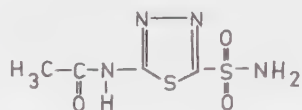
Phenylbutazon

Eine Steigerung der Ausscheidung bei Erhöhung des Urin-pH war nur bei Derivaten mit einem relativ hohen pK_a (4,5 - 5,5) zu beobachten. Dieser Befund ist durch eine "non-ionic diffusion" zu erklären, da der leichter diffundierende nicht ionisierte Anteil mit Anstieg des pH und pK_a immer mehr abnimmt, und deshalb mehr von der filtrierten Gesamtmenge ausgeschieden wird. Derivate mit niedrigem pK_a (2,3 - 3,1) liegen bei allen im Urin vorkommenden pH-Werten praktisch nur in der dissoziierten Form vor; eine Rückdiffusion des undissoziierten Anteils kann deshalb selbst bei saurem pH nicht sehr erheblich sein.

Eine Rückdiffusion aus dem Tubulus in das Blut ist also nur zu erwarten, wenn der pK_a -Wert der Säure hoch genug ist, daß durch Änderung des Urin-pH eine Änderung des Dissoziationsgrades hervorgerufen wird. Nach Alkalisierung des Urins überwiegt in diesem Fall

die nicht diffundierende ionisierte Form, und die Ausscheidung der Substanz ist erhöht. Aus diesen und ähnlichen Untersuchungen ergab sich die Hypothese der "non-ionic diffusion", des passiven Transportes des nicht dissoziierten Anteils einer organischen Säure durch die lipide Phase der tubulären Zellschicht.

Obwohl diese Hypothese die pH-Abhängigkeit der renalen Ausscheidung erklärt, konnte sie bisher nicht direkt bewiesen werden. Die pH-Verschiebungen im Urin können nur durch intravenöse Gabe von Basen und Säuren oder durch bestimmte Pharmaka, wie zum Beispiel den Carboanhydratasehemmer Acetazoleamid

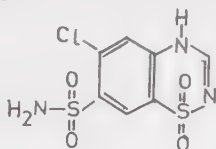


erreicht werden. Dadurch wird aber auch das gesamte Säuren-Basen Gleichgewicht des Versuchstieres verändert. Ein direkter Einfluß dieser Maßnahmen auf die Tubuluszellen, oder eine Änderung in der Filtration der zu untersuchenden Substanz ist nicht mit Sicherheit auszuschließen, zumal die Eiweißbindung durch pH (22) und verschiedene Substanzen (25) beeinflusst wird. Die vorliegenden Ergebnisse der pH- und längenabhängigen Reabsorption von Sulfamerazin aus dem proximalen Tubulus bilden deshalb, zusammen mit den Lipidlöslichkeitsbestimmungen, den ersten direkten Beweis für eine "non-ionic diffusion" im Nephron.

Es erhebt sich die Frage, ob die geringe Permeabilität des Sulfamerazins bei Durchströmung bei pH 8 allein durch Diffusion des geringen, undissoziierten Anteils bei dessen gleichzeitiger Neubildung in der pH-konstanten Perfusionsflüssigkeit bedingt ist, wie nach den Überlegungen von Milne und Mitarbeitern (7) anzunehmen ist. Wäre dies der Fall, so sollte das Permeabilitätsverhältnis bei den beiden pH-Werten dem Dissoziationsverhältnis des Sulfamerazins entsprechen. Da die

Permeabilität bei pH 8 jedoch höher liegt als nach dem Dissoziationsgrad allein zu erwarten wäre, ist eine Diffusion auch des ionisierten Anteils anzunehmen.

In Übereinstimmung mit Clearance-Bestimmungen (11) wurde für Sulfamerazin unter Durchströmungs- und freien-Flussbedingungen im proximalen Tubulus kein Transport gegen einen Konzentrationsgradienten gefunden. Nach der Hypothese von Mudge und Weiner (8) werden organische Säuren durch einen relativ unspezifischen Transportmechanismus aktiv in das Lumen des proximalen Tubulus sezerniert. Unterschiede in der renalen Ausscheidung der einzelnen Substanzen werden auf passive Rückdiffusion durch eine lipoide Zellphase zurückgeführt. Diese Vorstellung ist nicht mit den vorliegenden Ergebnissen vereinbar. Trotz der durch Eiweissbindung verursachten niedrigen Serumkonzentration des freien Sulfonamids in den Sekretionsversuchen wäre bei aktiver Sekretion eine Anreicherung der Substanz im Tubuluslumen zu erwarten, da die Plasmaeiweissbindung den Transportmechanismus selbst nicht beeinflusst (6). Auch die Erklärung, dass in den Durchströmungsversuchen eine intratubuläre Anreicherung von Sulfamerazin durch Rückdiffusion verhindert wurde, ist unwahrscheinlich. Nach früheren Untersuchungen wird das Sulfonamid Chlorothiazid



mit dem pK_a von 6.8 wie PAH sezerniert (26), obwohl die Lipoidlöslichkeit in Isobutanol dieser Substanz bei pH 5 und pH 8 mit der von Sulfamerazin vergleichbar ist. Auf Grund der Ergebnisse muss also eine höhere Spezifität des Transportmechanismus angenommen werden, als die von Mudge angegebene Voraussetzung eines dissoziierbaren H-Ions an der zu transportierenden Substanz.

Nach den Überlegungen von Despopoulos (9) ist ein aktiver

Transport für Sulfamerazin nicht zu erwarten. Er erklärt die Unterschiede in der renalen Ausscheidung von aktiv sezernierten organischen Säuren nur auf Grund von Affinitätsdifferenzen zu einem hypothetischen Rezeptor. Die strukturelle Gruppe $-\text{SO}_2-\text{NH}-$, die als Voraussetzung für die Bildung des Substrat-Rezeptorkomplexes angesehen wird, ist zwar auch bei Sulfamerazin vorhanden; Resonanz in den beiden Ring-systemen des Moleküls verhindert jedoch die als notwendig angesehene Lokalisation von negativen Ladungen an den Sauerstoffatomen und dem Stickstoffatom. Despopoulos bezweifelt die Brauchbarkeit der aktiven Transportbestimmung in Clearance-Versuchen, wenn sie auf Berechnungen der Filtrationsmenge des nicht an Eiweiß gebundenen Anteils beruht, da geringe Fehler in der Messung der Plasmaproteinbindung große Unterschiede in der errechneten Clearance verursachen. Auch der Effekt von Hemmsubstanzen auf die Sekretion von organischen Säuren kann auf Änderungen der transtubulären Permeabilität zurückgeführt werden, sodaß ein aktiver Transportmechanismus in Verbindung mit passiver Diffusion als unbewiesen gilt. In den vorliegenden Untersuchungen wurde zwar für Sulfamerazin eine passive pH-abhängige Diffusion gefunden; jedoch wird diese Substanz nicht aktiv transportiert. PAH wiederum, für die ein aktiver Sekretionsmechanismus nachgewiesen wurde, zeigt keine "non-ionic diffusion". Die Ergebnisse lassen deshalb die Frage offen, ob in der Niere eine aktive Sekretion in Verbindung mit passiver Reabsorption durch eine lipide Zellphase die Ausscheidung organischer Säuren bestimmen kann.

B. Harnsäure

Für Harnsäure wird eine aktive Reabsorption und eine aktive Sekretion angenommen. Lathem und Mitarbeiter (27) untersuchten die Clearance von Harnsäure und fanden, daß bei normalem Plasmaspiegel die Clearance ein Drittel der filtrierten Menge beträgt; der größte Teil wird also aus dem Nephron wieder reabsorbiert. Nach intravenöser

Infusion von Harnsäure stieg die Ausscheidung auf Werte, die über der gleichzeitig bestimmten Filtrationsrate lagen. Sowohl die Reabsorption (28) als auch die Sekretion (29) ist pH-unabhängig und soll durch einen aktiven Mechanismus erfolgen (30, 31). Yü und Mitarbeiter (32) versuchten, mit Hilfe der sogenannten "stop-flow" Methode die Transportmechanismen für Harnsäure in dem Nephron zu lokalisieren. Diese Methode geht von der Überlegung aus, daß nach Abklemmung des Ureters der Harnfluß in allen Teilen des Nephrons zum Stillstand kommen muß. Transtubuläre Sekretion und Reabsorption finden jedoch weiter statt, und es werden Konzentrationsänderungen erreicht, die weit größer sind als die unter normalen Bedingungen gefundenen Werte. Nach einer bestimmten Zeit wird der Ureter wieder freigegeben, und der aus der Niere ausströmende Harn wird in eine Serie von Gefäßen gesammelt, die in kurzen Zeitabständen gewechselt werden. Die Proben am Anfang der Serie bestehen aus Flüssigkeit, die während der Abklemmung in den distalen Teilen der Nephrone stand. Die Gefäße am Ende der Serie enthalten Flüssigkeit aus den proximalen Nephronabschnitten. Durch Analyse der Probenserie kann eine ungefähre Lokalisation der Transportvorgänge ermittelt werden. Auf Grund von solchen "stop-flow" Versuchen nehmen Yü und Mitarbeiter an, daß Harnsäure in dem proximalen Teil des Nephrons reabsorbiert und in dem distalen Teil sezerniert wird. Sie vermuten außerdem, daß die filtrierte Harnsäure quantitativ rückresorbiert wird, und daß die ausgeschiedene Substanz durch transtubuläre Sekretion in den Urin gelangt.

In den vorliegenden Experimenten wurde eine Reabsorption von Harnsäure im proximalen Tubulus gefunden. Der Mechanismus, der mit passiver Diffusion vereinbar ist, besteht nicht aus "non-ionic diffusion" durch eine lipide Phase der Tubuluszellen. Ein direkter Einfluß des intratubulären pH auf die Permeabilität der Zellwand für Harnsäure ist nicht ausgeschlossen. Eine quantitative Rückresorption der filtrierten Harnsäure ist mit diesen Befunden jedoch nicht zu erklären.

Bei einem normalen Plasmaspiegel von 0,06 mM/l ist die maximal mögliche intratubuläre Konzentration am Ende des proximalen Konvoluts ungefähr 0,3 mM/l. Selbst bei einem pH von 8 im Tubulus liegt die Tubuluslänge die durchströmt werden muß, um die Konzentration auf die Hälfte zu reduzieren bei 2600 μ . Da das gesamte proximale Konvolut des Rattennephrons nur eine Länge von 4 - 5000 μ hat, und der trans-tubuläre Gradient wegen der im Plasma vorhandenen Harnsäure gering ist, ist eine quantitative Reabsorption unwahrscheinlich.

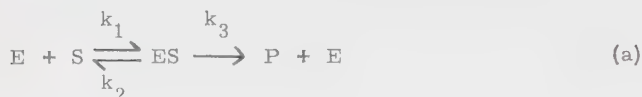
Unter den Versuchsbedingungen - Durchströmung mit Harnsäure-enthaltenden Lösungen - wurde keine Sekretion im proximalen Konvolut festgestellt. Der Schluß, daß kein aktiver Harnsäuretransport in diesem Nephronabschnitt stattfindet, ist jedoch ungerechtfertigt. Für PAH konnte bei Durchströmung mit PAH-freier Lösung ein Transport in den Tubulus gegen einen Konzentrationsgradienten gezeigt werden. Wurde jedoch mit PAH-enthaltender Lösung perfundiert, trat diese aktive Sekretion nicht auf. Die Möglichkeit besteht deshalb, daß auch eine Harnsäure-sekretion durch die vorgegebene intratubuläre Konzentration gehemmt wurde.

C. p-Aminohippursäure

Nach der Transporttheorie von Smith (6) wird PAH nur durch Filtration im Glomerulum und zusätzlicher Sekretion ausgeschieden. Die Ausscheidung ist bei niedrigen Serumkonzentrationen nahezu quantitativ, d.h. die gesamte Substanzmenge, welche mit dem Blutstrom in die Niere gelangt, wird im Urin ausgeschieden. Bei Erhöhung der Serumkonzentration wird eine maximale Transportrate erreicht, die bei weiterer Steigerung der im Blute vorhandenen Menge unverändert bleibt. Diese maximale Transportkapazität wird auf Sättigung einer begrenzten Anzahl von Transportstellen, die über den proximalen Nephronabschnitt verteilt sind, zurückgeführt. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen

zur PAH-Sekretion stützen diese Theorie nicht, da eine Begrenzung der Transportkapazität durch die für die Sekretion zur Verfügung stehende Fläche nicht auftritt; auch die Möglichkeit einer flächenunabhängigen konstanten Transportrate ist kaum vorstellbar, so dass eine andere Deutung der Ergebnisse notwendig ist. Nach den Befunden Kinters (33), der an dem Kaltblüter *Necturus* sowohl eine PAH-Sekretion als auch -Reabsorption nachwies, könnten die Durchströmungsbefunde durch die Annahme erklärt werden, dass sich die PAH-Konzentration im Tubulus auf eine Gleichgewichtskonzentration zwischen Einstrom durch Sekretion und Ausstrom durch Reabsorption einstellt. Auch Braun (34), der am Warmblüter, im Gegensatz zu früheren Untersuchungen (35) einen Anstieg der PAH-Ausscheidung mit zunehmendem Urin-pH feststellte, führt dieses Resultat auf Änderung einer tubulären Reabsorption zurück, und zwar über den Mechanismus der "non-ionic diffusion". Eine "non-ionic diffusion" wurde in den Durchströmungsversuchen jedoch nicht gefunden. Bei niedrigem pH, bei dem p-Aminohippursäure zu 50 % undissoziiert ist und eine maximale Rückdiffusion zu erwarten wäre, ist die Tubuluswand für PAH praktisch undurchlässig. Mit zunehmendem pH in der Perfusionsflüssigkeit steigt die Durchlässigkeit der Membran, ist jedoch bei pH 8 noch bei weitem zu gering, um die konstante intratubuläre Konzentration auf Grund von PAH-Reabsorption zu erklären. Die Ergebnisse von Braun lassen sich eher auf eine indirekte Beeinflussung durch die Versuchsbedingungen zurückführen. Durch Infusion von Natriumbicarbonat wird das Gesamttier in einen Zustand der Alkalose versetzt. Dadurch wird aus dem Gewebe vermehrt Lactat freigesetzt, und die Lactatkonzentration im Blut steigt an (36). Da Lactat die PAH-Sekretion steigert (36), mag die Zunahme der Ausscheidung bei alkalischem pH auf diesem Mechanismus beruhen.

Da die Deutung der vorliegenden Ergebnisse auf der Basis einer Gleichgewichtseinstellung zwischen Ein- und Ausstrom von PAH nicht zutreffend ist, bleibt die Annahme einer Transportbegrenzung durch die intratubuläre Konzentration selbst. Nach Wilbrandt kann der renale Sekretionsmechanismus für organische Säuren mit einer Enzym-Substrat Reaktion verglichen werden. (37, 38). Diese Reaktion ist durch die Michaelis-Menten Gleichung zu beschreiben (39) :



Die Enzymsubstratverbindung ES bildet sich aus dem freien Enzym E und dem Substrat S. Sie zerfällt unter Rückbildung des freien Enzyms in die Endprodukte P. Ist die Substratkonzentration so hoch, dass sie durch Bildung des ES nicht merklich abnimmt, so ist die Bildungsgeschwindigkeit von ES

$$+ \frac{dES}{dt} = k_1 \cdot E \cdot S, \quad (b)$$

und die Geschwindigkeit des Zerfalls nach beiden Richtungen ist

$$- \frac{dES}{dt} = k_2 \cdot ES + k_3 \cdot ES. \quad (c)$$

Im Gleichgewicht sind beide Geschwindigkeiten einander gleich, und die Gleichgewichtskonstante K_m der Zwischenverbindung ist

$$K_m = \frac{k_2 + k_3}{k_1} = \frac{E \cdot S}{ES} \quad (d)$$

Wird die Konzentration des Gesamtfermentes mit T bezeichnet, ist die des freien E = T - ES. und Gleichung (d) ist dann

$$K_m = \frac{(T - ES) \cdot S}{ES} = \left(\frac{T}{ES} - 1 \right) \cdot S \quad (e)$$

und

$$ES = T \cdot \frac{S}{S + K_m} \quad (f)$$

Wird die Anfangsgeschwindigkeit des Substratsatzes v der Konzentration von ES proportional gesetzt, wird die Maximalgeschwindigkeit V dann erreicht, wenn das gesamte Ferment T bei hohen Substratkonzentrationen für die Bildung von ES verbraucht wurde. Gleichung (f) kann somit folgendermassen geschrieben werden:

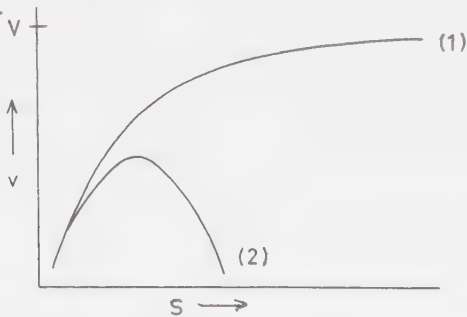
$$v = V \cdot \frac{S}{S + K_m} \quad (g)$$

Die Umsatzgeschwindigkeit hängt also ab von der Substratkonzentration, der Gleichgewichtskonstante der Zwischenverbindung und von der Konzentration des Gesamtfermentes, da V und T proportional sind.

Um diese Überlegungen auf den Sekretionsmechanismus in der Niere zu übertragen, nimmt man an, dass die organische Säure an der dem Lumen abgewandten Seite der tubulären Zellschicht eine Verbindung mit einem hypothetischen Rezeptormolekül oder "Carrier" eingeht. Die Verbindung entspräche der Enzymsubstratverbindung in Gleichung (a). Eine maximale Transportrate wird dann erreicht, wenn die im Tubulus zur Verfügung stehende Anzahl der "Carrier" mit der zu transportierenden Substanz besetzt ist. In Analogie zu Gleichung (g)

ist also eine hyperbolische Beziehung zwischen der transtubulären Sekretionsrate und der Konzentration der organischen Säure im Plasma zu erwarten. Diese theoretische Beziehung gleicht derjenigen, die in Clearanceversuchen gefunden wurde.

In den vorliegenden Durchströmungsversuchen wäre jedoch auch nach dieser Hypothese eine Abhängigkeit der PAH-Sekretion von der Länge des perfundierten Tubulusabschnittes zu erwarten. Die Anzahl der "Carrier" (Konzentration von T in Gleichung (e) und (f)) in langen Strecken ist bei gleichmässiger Verteilung grösser als in kurzen. Wenn also T ansteigt, nimmt auch die maximale Geschwindigkeit V zu. Nun können aber Enzym-Substrat Reaktionen nicht immer durch die oben ausgeführten Gleichungen beschrieben werden. So fand Nachmansohn und Wilson (40), sowie Hardegg (41), dass manche Enzym-Substrat Reaktionen nicht den erwarteten Verlauf (Kurve 1 in dem untenstehenden Schema) aufweisen, sondern dass mit zunehmender Substratkonzentration die Umsatzgeschwindigkeit ein Maximum zeigt, um bei weiter steigender Substratkonzentration wieder abzufallen (Kurve 2).



Es findet also eine Hemmung des Umsatzes durch das Substrat selbst statt, die dadurch erklärt wird, dass an der Enzymsubstratverbindung ES sich noch n Moleküle von S anlagern und die Verbindung inaktivieren,

nach der Gleichung:



Diese zweite Verbindung zerfällt nicht in die Endprodukte, und erklärt die glockenförmige Form der Beziehung zwischen Umsatzgeschwindigkeit und Substratkonzentration (Kurve 2).

Die Selbsthemmung bietet die Erklärungsmöglichkeit für die vorliegenden Befunde der PAH-Sekretion. Mittels eines Transportmechanismus, der mit einer Enzym-Substrat Reaktion vergleichbar ist, wird in dem Anfangssegment des durchströmten Tubulus PAH in die PAH-freie Perfusionslösung befördert. Die intratubuläre Konzentration steigt schnell an und hemmt, analog zu Gleichung (h), den Transportmechanismus in den weiteren Tubulussegmenten. Es stellt sich also in dem ersten kurzen Segment (Länge < 100 μ) eine PAH-Konzentration ein, die sich in weiteren unterschiedlich langen Durchströmungsstrecken nicht mehr wesentlich verändert. Die Streuung der intratubulären Konzentration (Ergebnisse, Abb. 7b) besonders bei niedrigen PAH-Konzentrationen im Plasma, ist wahrscheinlich auf Unterschiede in dem Gesamtzustand der Versuchstiere - Narkose, Operationstrauma - und dadurch bedingte Änderungen der Transportkapazität zurückzuführen.

Nach diesen Überlegungen besteht in der Wand des proximalen Tubulus ein transtubulärer Sekretionsmechanismus für PAH mit einer hohen potentiellen Transportkapazität. Diese Kapazität wird jedoch nicht erreicht, da die transportierte PAH selbst den Mechanismus inaktiviert.

ZUSAMMENFASSUNG

Unabhängig vom Glomerulumfiltrat wurden einzelne Abschnitte proximaler Konvolute der Rattenniere in situ mit verschiedenen Lösungen durchströmt. Dabei wurde einmal die Aufnahme von Sulfamerazin, Harnsäure oder p-Aminohippursäure (PAH) aus dem Blut in die substanzfreie Perfusionsflüssigkeit gemessen. Zum anderen wurde bei Tubulusperfusion mit Lösungen, die die obigen Substanzen in verschiedenen Konzentrationen enthielten, der Ausstrom aus dem Tubulus in das substanzfreie Blut untersucht.

1. In Abhängigkeit von dem pH-Wert der Perfusionsflüssigkeit findet ein Ausstrom von Sulfamerazin aus dem Tubulus statt. Dieser Ausstrom ist durch passive Diffusion durch eine lipide Phase der Tubuluswand auf Grund einer höheren Lipidlöslichkeit des nicht dissoziierten Anteils des Sulfamerazins zu erklären. Untersuchungen zu dem Einstrom in den Tubulus sind ebenfalls mit passiver Diffusion vereinbar, so dass ein energiebedingender transtubulärer Transportprozess für Sulfamerazin nicht angenommen wird.

2. Auch Harnsäure zeigt eine geringe Diffusion aus dem Tubulus, deren pH-Abhängigkeit reziprok zu der des Sulfamerazins ist. Die Diffusion beruht nicht auf Lipoid-Löslichkeit und mag einen Einfluss des pH-Wertes auf die Permeabilität der Tubuluswand andeuten. Unter den Versuchsbedingungen ist ein eindeutiger Einstrom in den Tubulus nicht zu beobachten.

3. Der Ausstrom von PAH ist in pH-Abhängigkeit und Ausmass mit dem von Harnsäure vergleichbar, trotz einer Lipoid-Löslichkeit des undissoziierten Anteils. Ausserdem findet in dem

proximalen Tubulus ein Einstrom von PAH statt, der von der Länge der durchströmten Tubulusstrecke unabhängig ist. Bei niedrigen Konzentrationen der Substanz im Blutplasma kann eine 5-fach höhere intratubuläre Konzentration im Tubuluslumen gemessen werden. Es stellt sich eine maximale intratubuläre Konzentration ein, die bei weiterer Steigerung der Plasmakonzentration unverändert bleibt. Der Einstrom wird nach dem Mechanismus einer Enzym-Substrat Reaktion erklärt, in der das gebildete Produkt (intratubulär angereicherte PAH) die Freisetzung von Enzym aus dem Enzymsubstratkomplex hemmt, und somit kein Enzym mehr für einen weiteren Transport zur Verfügung steht.

LITERATUR

1. Bowman, W. (1842): On the structure and use of the Malpighian bodies of the kidney, with observations on the circulation through the gland.
Phil. Trans. roy. Soc. Lond. 1:57
2. Ludwig, C. (1856): Lehrbuch der Physiologie des Menschen, Leipzig und Heidelberg
3. Heidenhain, R. (1874): Versuche über den Vorgang der Harnabsonderung.
Pflüg. Arch. ges. Physiol. 9:1
4. Richards, A.N. and A.M. Walker (1935): Urine formation in the amphibian kidney.
Am. J. Med. Scie. 190:727
5. Marshall, E.K. and M.M. Crane (1924): The secretory function of the renal tubules.
Am. J. Physiol. 70:465
6. Smith, H.W. (1951): The kidney: structure and function in health and disease.
Oxford Univ. Press, N.Y.
7. Milne, M.D., B.H. Scribner and M.A. Crawford (1958): Non-ionic diffusion and the excretion of weak acids and bases.
Am. J. Med. 24:709
8. Mudge, G.H. and I.M. Weiner (1963) : Renal excretion of organic acids and bases.
Drugs and Membranes, vol. 4, Pergamon Press, Oxford

9. Despopoulos, A. and P.X. Callahan (1962): Molecular features of sulfonamide transport in renal excretory processes.
Am. J. Physiol. 203:19
10. Despopoulos, A. (1963): Definition of substrate specificity in renal transport of organic anions.
Drugs and Membranes, vol. 4, Pergamon Press, Oxford
11. Portwich, F., H. Büttner und K. Engelhardt (1963): Nierenausscheidung und Eiweißbindung von Sulfonamiden.
Klin. Wschr. 41:447
12. Gutman, A.B. and T.F. Yü (1958): Renal regulation of uric acid excretion in normal and gouty man: modification by uricosuric agents
Bull. N. Y. Acad. Med. 34:287
13. Sonnenberg, H. und P. Deetjen (1964): Methode zur Durchströmung einzelner Nephronabschnitte.
Pflüg. Arch. ges. Physiol. 278:669
14. Thureau, K. und P. Deetjen (1961): Kinematographische Untersuchungen am Warmblüternephron.
Nachr. Akad. Wissensch. Göttingen 2:27
15. Gertz, K.H. (1963): Transtubuläre Natriumchloridflüsse und Permeabilität für Nichteletrolyte im proximalen und distalen Konvolut der Rattenniere.
Pflüg. Arch. ges. Physiol. 276:336
16. Kashgarian, M., H. Stöckle, C.W. Gottschalk and K.J. Ullrich (1963): Transtubular electrochemical potentials of sodium and chloride in proximal and distal renal tubules of rats during antidiuresis and water diuresis (Diabetes insipidus).
Pflüg. Arch. ges. Physiol. 277:89

17. Ullrich, K.J. und A. Hampel (1958): Eine einfache Mikroküvette für Monochromator Zeiss und Beckman Modell DU.
Pflüg. Arch. ges. Physiol. 268:537
18. Bratton, A.C. and E.K. Marshall (1939): A new coupling component for sulfanilamide determination.
J. biol. Chem. 128:537
19. Hilger, H.H., J.D. Klümper und K.J. Ullrich (1958): Wasserrückresorption und Ionentransport durch die Sammelrohrzellen der Säugetierniere.
Pflüg. Arch. ges. Physiol. 267:218
20. Caraway, W.T. (1955): Determination of uric acid in serum by a carbonate method.
Am. J. clin. Path. 25:840
21. Höber, R. (1950): Physical chemistry of cells and tissues.
The Blakiston Company, Philadelphia - Toronto
22. Waddell, W.J. and T.C. Butler (1957): The distribution and excretion of phenobarbital.
J. clin. Invest. 36:1217
23. Gutman, A.B., T.F. Yü and J.H. Sirota (1955): A study, by simultaneous clearance techniques, of salicylate excretion in man. Effect of alkalization of the urine by bicarbonate administration; effect of probeñacid.
J. clin. Invest. 34:711
24. Gutman, A.B., P.G. Dayton, T.F. Yü, L. Berger, W. Chen, L.E. Sicam and J.J. Burns (1960): A study of the inverse relationship between pK_a and rate of renal excretion of phenylbutazone analogs in man and dog.
Am. J. Med. 29:1017

25. Portwich, F. and H. Büttner (1961): Die Bedeutung der Serumeiweißbindung von Sulfonamiden für Nierenausscheidung.
Helv. Physiol. Acta 19:C99
26. Beyer, K.H. (1958): The mechanism of action of chlorothiazide.
Ann. N. Y. Acad. Scie. 71:387
27. Lathem, W., B.B. Davis and G.P. Rodnan (1960): Renal tubular secretion of uric acid in the mongrel dog.
Am. J. Physiol. 199:9
28. Yü, T.F., P.G. Dayton, and A.B. Gutman (1963): Mutual suppression of the uricosuric effects of sulfinpyrazone and salicylate: a study in interactions between drugs.
J. clin. Invest. 42:1330
29. Yü, F.T., L. Berger, D.J. Stone, J. Wolf and A.B. Gutman (1957): Effect of pyrazinamide and pyrazinoic acid on urate clearance and other discrete renal functions.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96:264
30. Gutman, A.B. and T. F. Yü (1957): Renal function in gout.
Am. J. Med. 23:600
31. Gutman, A.B., T.F. Yü and L. Berger (1959): Tubular secretion of urate in man.
J. clin. Invest. 38:1778
32. Yü, T. F., L. Berger, S. Kupfer and A.B. Gutman (1960): Tubular secretion of urate in the dog.
AmJ. Physiol. 199:1199
33. Kinter, W.B. (1959): Renal tubular transport of Diodrast- I^{131} and PAH in Necturus: evidence for simultaneous reabsorption and secretion.
Am. J. Physiol. 196:1141

34. Braun, W. (1963): Über die Abhängigkeit der Clearancewerte vom Urin-pH.
Arch. exp. Path. Pharmacol. 245:93
35. Knoefel, P.K. (1962): Renal tubular transport of some nitro and amino hippuric acids.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 109:148
36. Cohen, J.J. and E.W. Randall (1964): Alkalosis and renal p-amino-hippurate transport in dog: relation to lactate uptake.
Am. J. Physiol. 206:383
37. Wilbrandt, W. and T. Rosenberg (1961): The concept of carrier transport and its corollaries in pharmacology.
Pharmacol. Rev. 13:109
38. Wilbrandt, W. (1963): Aktiver Transport durch Grenzflächen.
Klin. Wschr. 41:
39. Netter, H. (1959): Theoretische Biochemie: Physikalisch-chemische Grundlagen der Lebensvorgänge.
Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg
40. Nachmansohn, D. and I.B. Wilson (1951)
Advanc. Enzymol. 12:259
41. Hardegg, W. (1959): Zur Messung der Monoaminoxidase-Aktivität.
Pflüg. Arch. ges. Physiol. 270:

Herrn Prof. Dr. R. Riemschneider möchte ich an dieser Stelle für seine großzügige Unterstützung und für wertvolle Ratschläge bei der Bearbeitung des Themas herzlich danken.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. K. J. Ullrich für die Überlassung des Themas und für das dauernde Interesse und die großzügige Hilfe zu danken, mit der er sich am Fortgang der Arbeit beteiligt hat.

Auch meinen beiden Mitarbeitern, Herrn Dr. K. Baumann und Herrn Dr. H. Oelert möchte ich hiermit meinen Dank aussprechen.

ANHANG

Tab. I: Reabsorption von Sulfamerazin bei Durchströmung bei pH 5 und pH 8.

$[S_P]$ = Ausgangskonzentration des Sulfamerazins im Perfusat in Millimol pro Liter.

$[S_T]$ = Konzentration des Sulfamerazins in der aus dem durchströmten Tubulus entnommenen Probe.

L = Länge der durchströmten Tubulusstrecke in μ

Sulfamerazin-Reabsorption

pH	$\frac{[S]}{[P]} \text{ in M/l}$	$\frac{[S]}{[T]}$	$\frac{[S]}{[P]} \times 100$	$\log \frac{[S]}{[P]} \times 100$	L - μ
5,0	1,63	0,61	37	1,568	500
		0,68	42	1,620	400
		0,23	14	1,146	1080
5,0	1,14	0,42	37	1,568	720
		0,57	50	1,699	300
5,0	1,18	0,08	6	0,778	1780
		0,08	6	0,778	1800
		0,08	6	0,778	990
		0,53	52	1,716	360
		0,15	13	1,114	1350
		0,23	22	1,342	630
5,0	0,38	0,25	66	1,820	380
		0,05	13	1,114	1225
		0,05	12	1,079	1080
		0,05	13	1,114	1000
		0,24	64	1,806	200
5,0	1,18	0,68	60	1,778	360
		0,30	21	1,322	1035
		0,95	66	1,820	200
5,0	2,46	0,95	38	1,580	560
		1,10	45	1,653	300
		0,76	31	1,491	420

Sulfamerazin-Reabsorption

pH	$\left[\begin{smallmatrix} S \\ P \end{smallmatrix} \right]^{in} M/l$	$\left[\begin{smallmatrix} S \\ T \end{smallmatrix} \right]$	$\frac{\left[\begin{smallmatrix} S \\ T \end{smallmatrix} \right]}{\left[\begin{smallmatrix} S \\ P \end{smallmatrix} \right]} \times 100$	$\log \frac{\left[\begin{smallmatrix} S \\ T \end{smallmatrix} \right]}{\left[\begin{smallmatrix} S \\ P \end{smallmatrix} \right]} \times 100$	L - μ
5,0	1,90	0,38	20	1,301	860
		0,15	9	0,954	970
		0,60	32	1,505	490
		0,53	27	1,431	660
		0,23	12	1,079	1350
5,0	0,91	0,57	64	1,806	190
		0,30	32	1,505	405
5,0	1,82	1,25	62	1,792	215
		0,61	32	1,505	450
		0,30	16	1,204	740
		0,68	36	1,556	630
		0,53	30	1,477	700
		1,06	57	1,756	210
5,0 [Hippurat] P	1,86	0,42	22	1,342	880
		0,23	12	1,114	1180
		0,76	41	1,613	460
2,79 mM/l					
8,0	1,78	1,25	73	1,863	400
		0,49	29	1,462	1120
		1,37	81	1,908	315
		0,95	56	1,748	765
8,0	1,52	0,79	52	1,716	720
		0,49	32	1,505	1175

Sulfamerazin-Reabsorption

pH	in M/l		$\frac{[S_T]}{[S_P]} \times 100$	$\log \frac{[S_T]}{[S_P]} \times 100$	L - μ
8,0	1,18	0,83	71	1,851	300
		0,76	64	1,806	480
		0,53	45	1,653	950
8,0	1,67	0,46	28	1,447	500
		0,76	45	1,653	830
8,0	1,75	0,76	51	1,707	765
		1,29	73	1,863	435
		0,83	48	1,681	965
		0,87	50	1,699	780
		1,14	65	1,813	595
		1,44	82	1,914	270
		0,46	26	1,415	2520
8,0	2,20	0,72	33	1,518	1760
8,0	1,52	1,06	70	1,845	590
		0,53	36	1,556	2070
		0,57	37	1,568	1845
8,0	1,75	0,68	39	1,591	1050
		0,68	40	1,602	1160
		0,99	56	1,748	810

Tab. II: Sekretion von Sulfamerazin bei Durchströmung bei pH 5 und pH 8, und unter freien-Flussbedingungen (ff). Die hinter einigen freien-Flusswerten stehenden Prozentangaben beziehen sich auf den Anteil des gesamten proximalen Konvoluts, der vor der Punktionsstelle liegt.

$[S]_T$ = Konzentration des Sulfonamids im Tubulus,

$[S]_S$ = Serumkonzentration in Millimol pro Liter.

Sulfamerazin -Sekretion

pH	[S _T]	[S _S]	L - μ	pH	[S _T]	[S _S]	L - μ
8,0	0,23	2,50	220	8,0	0	0,38	ff
	0,38	1,59	1500		0	0,42	ff
					0	0,45	ff
8,0	0	0,30	830		0	0,45	ff
	0,11	0,27	2000				
	0	0,30	1720	5,0	0,076	0,91	1230
	0,11	0,23	800		0,038	0,95	ff (75 %)
	0	0,3	750		0,038	0,99	800
	0	0,30	480		0,038	0,99	ff (59 %)
	0	0,30	100		0,038	0,91	390
					0,038	1,02	ff
8,0	0	0,76	900				
	0,076	0,83	810	5,0	0	0,68	ff
					0	0,76	ff
8,0	0	0,91	200		0	0,68	ff
	0,038	0,99	810				
	0,038	1,06	680	5,0	0,15	0,42	
	0,038	1,06	130		0,19	0,49	ff
					0,23	0,53	
8,0	0,038	0,91	1225		0,27	0,53	
[NaCN] _P	0,038	0,91	2000		0,23	0,53	
10 ⁻⁴ M/l					0,27	0,49	ff
					0,23	0,53	ff
8,0	0,53	1,36	1330		0,23	0,49	
	0,49	1,44	900		0,27	0,49	
	0,45	1,75	990		0,23	0,53	ff
	0,53	1,71	1530				
	0,53	1,75	965	5,0	0,076	0,38	
	0,49	1,52	ff (77 %)		0,076	0,34	ff
					0,076	0,30	
					0,076	0,34	ff
					0,11	0,38	
					0,11	0,34	ff
					0,11	0,30	

Tab. III: Harnsäure-Reabsorption bei Durchströmung bei
pH 5 und pH 8.

$[H^*]_P$ = radioaktiver Zerfall von C^{14} -Harnsäure im Ausgangs-
perfusat. Anzahl der Zerfälle pro Minute (cpm).

$[H^*]_T$ = radioaktiver Zerfall von C^{14} -Harnsäure in aus dem
durchströmten Tubulus entnommenen Proben.

$[H^*]_P$ = Harnsäurekonzentration im Ausgangsperfusat.

$[H^*]_T$ = Harnsäurekonzentration in den Tubulusproben.

Harnsäure-Reabsorption

pH	$\left[\text{H}^* \right]_{\text{P}}$ cpm	$\left[\text{H}^* \right]_{\text{P}}$ mM/l	$\left[\text{H}^* \right]_{\text{T}}$ cpm	$\left[\text{H}^* \right]_{\text{T}}$ mM/l	$\frac{\left[\text{H}^* \right]_{\text{T}}}{\left[\text{H}^* \right]_{\text{P}}} \times 100$	$\log \frac{\left[\text{H}^* \right]_{\text{T}}}{\left[\text{H}^* \right]_{\text{P}}} \times 100$	L - μ
5,0	-	0,57	-	0,57 0,52	100 88	2,000 1,944	1660 2710
5,0	471	1,95	439 410 424 378 344 437 427	1,85 1,73 1,79 1,55 1,43 1,85 1,79	93 87 90 94 81 93 102	1,968 1,940 1,954 1,973 1,908 1,968 2,009	810 880 1340 1330 2390 480 400
5,0	510	2,14	495 473 501 512 478 499 429	2,08 2,02 2,08 2,14 2,02 2,08 2,20	97 93 98 100 94 98 104	1,987 1,968 1,991 2,000 1,973 1,991 2,017	920 2615 1800 200 1980 1060 690
5,0	420	1,79	393 384 370	1,67 1,61 1,55	94 91 88	1,973 1,959 1,944	1095 1110 2610
5,0	966	2,08	956 839 842 936	2,08 1,85 1,79 2,02	99 88 87 97	1,996 1,944 1,940 1,987	460 990 1350 1220
5,0	966	1,85	903 836 835	1,91 1,85 1,85	96 84 84	1,982 1,924 1,924	970 1200 1530
8,0	-	1,19	-	1,01 0,95 1,19	85 80 100	1,929 1,903 2,000	250 350 50

Harnsäure-Reabsorption

pH	$\frac{[H^*]_P}{\text{cpm}}$	$\frac{[H^*]_P}{\text{mM/l}}$	$\frac{[H^*]_T}{\text{cpm}}$	$\frac{[H^*]_T}{\text{mM/l}}$	$\frac{[H^*]_T}{[H^*]_P} \times 100$	$\log \frac{[H^*]_T}{[H^*]_P} \times 100$	L - μ
8,0	515	2,14	333	1,36	65	1,813	2560
			394	1,61	76	1,881	1260
			385	1,61	75	1,875	1640
			422	1,79	80	1,903	1680
			404	1,67	78	1,892	710
			395	1,67	77	1,886	820
			424	1,79	82	1,914	730
			339	1,43	66	1,820	3180
			366	1,55	71	1,851	1760
8,0	509	2,14	262	1,07	69	1,839	2400
			423	1,79	83	1,919	435
			374	1,61	74	1,869	1290
			361	1,49	71	1,851	1640
			386	1,61	76	1,881	1010
			440	1,85	86	1,934	630
			415	1,79	82	1,914	975
			401	1,67	79	1,898	1060
			445	1,91	88	1,944	360
			424	1,79	84	1,924	830
8,0	860	1,85	681	1,43	78	1,892	1230
			690	1,49	79	1,898	860
			688	1,49	79	1,898	250
			631	1,31	83	1,919	580
			714	1,49	82	1,914	1340
			625	1,31	71	1,851	1880
			724	1,55	83	1,919	630
			705	1,49	70	1,845	1955
			542	1,13	65	1,813	3680
			655	1,36	75	1,875	160

Tab. IV: Gleichzeitige Messungen der Harnsäure-Sekretion und -Reabsorption.

$[H + H^*]_T$ = chemisch bestimmte Gesamtkonzentration von radioaktiver und nicht-radioaktiver Harnsäure im Tubulus.

$[H]_T$ = errechnete Konzentration der nichtmarkierten Harnsäure im Tubulus.

$[H]_S$ = Konzentration der nichtmarkierten Harnsäure im Serum.

Andere Bezeichnungen wie in Tab. III.

Harnsäure-Sekretion und -Reabsorption

pH	$[H^*]_P$ cpm	$[H^*]_P$ mM/l	$[H + H^*]_T$ mM/l	$[H^*]_T$ cpm	$[H^*]_T$ mM/l	$[H]_T$ mM/l	$\frac{[H^*]_T}{[H^*]_P} \times 100$	$\log \frac{[H^*]_T}{[H^*]_P} \times 100$	L - μ	H S
8,0	298	2,14	1,43	211	1,49	- 0,06	71	1,851	1470	0,18
8,0	682	2,14	2,02	581	1,85	0,18	86	1,929	500	0,15
			1,43	539	1,67	- 0,24	79	1,898	1110	0,13
			-	577	1,79	-	85	1,929	900	-
8,0	427	1,31	1,25	372	1,13	0,12	87	1,940	640	0,15
			1,25	336	1,01	0,24	78	1,892	510	0,15
			1,67	401	1,25	0,42	94	1,973	590	0,18
			1,36	394	1,19	0,18	92	1,964	230	0,06
			2,50	333	1,01	1,49	78	1,892	1110	0,09
			1,43	343	1,07	0,36	80	1,903	760	0,12
			1,31	378	1,13	0,18	88	1,944	540	0,12
8,0	380	2,14	1,67	255	1,43	0,24	72	1,857	1070	0,04
			1,67	269	1,55	0,12	71	1,851	840	0,04
8,0	347	1,85	1,25	269	1,43	- 0,18	78	1,892	1150	0,13
			1,19	251	1,31	- 0,12	72	1,857	1710	0,16
			1,19	247	1,31	- 0,12	71	1,851	1170	0,21
			1,19	254	1,36	- 0,18	73	1,863	1560	0,11

Tab. V: p-Aminohippursäure-Sekretion bei Durchströmung mit PAH-freier, nichtgepufferter Gleichgewichtslösung.

$[\text{PAH}]_T$ = Konzentration der Säure im durchströmten Tubulus.

$[\text{PAH}]_S$ = Konzentration im Serum.

$\dot{M}_{\text{PAH}}$ = die pro Minute sezernierte PAH-Menge, errechnet aus der intratubulären Konzentration und der Perfusionrate.

$\dot{M}_{\text{PAH}}/A$ = die sezernierte PAH-Menge, bezogen auf die Fläche der durchströmten Tubulusstrecke.

p-Aminohippursäure-Sekretion

$\left[\text{PAH} \right]_{\text{T}}$ mM/l	$\left[\text{PAH} \right]_{\text{S}}$ mM/l	L μ	$\dot{M}_{\text{PAH}}$ $\mu\text{M}/\text{min} \times 10^{-5}$	$\dot{M}_{\text{PAH}}/A$ $\mu\text{M}/\text{min}/\text{cm}^2 \times 10^{-2}$
0,88	0,10	800	1,76	3,53
0,62	0,05	400	1,24	4,97
2,37	0,26	720	4,74	10,55
0,93	0,26	940	1,86	3,17
1,86	0,36	500	3,72	11,91
1,44	0,41	1100	2,88	4,21
0,82	0,41	360	1,64	7,31
1,65	0,52	220	3,30	24,00
1,19	0,41	2000	2,38	2,10
1,24	0,46	100	2,48	39,80
0,57	0,46	460	1,14	3,98
0,98	0,41	2000	1,96	1,57
0,82	0,46	1740	1,64	1,51
1,13	0,46	1260	2,26	2,88
0,52	0,41	660	1,04	2,43
0,67	0,46	700	1,34	3,08
0,67	0,52	2280	1,34	0,91
1,24	0,82	750	2,48	5,30
2,27	0,82	560	4,54	12,86
1,29	0,77	1500	2,58	2,75
1,24	0,82	730	2,48	5,45
0,82	0,82	730	1,64	3,60
1,29	0,93	1020	2,58	4,04
0,62	0,93	720	1,24	2,78
1,03	0,82	660	2,06	5,02
1,24	0,82	1680	2,48	2,35
0,62	0,46	780	1,24	2,55
0,21	0,15	1680	0,42	0,40
0,41	0,36	260	0,82	5,12
0,82	0,57	560	1,64	4,69
0,82	0,67	330	1,64	8,00
1,65	0,72	960	3,30	5,49
1,24	0,72	1500	2,48	2,64

p-Aminohippursäure-Sekretion

$[PAH]_P$	$[PAH]_S$	L	$\dot{M}_{PAH}$	$\dot{M}_{PAH}/A$
mM/l	mM/l	μ	$\mu M/min \times 10^{-5}$	$\mu M/min/cm^2 \times 10^{-2}$
1,85	0,72	630	3,70	9,40
2,32	0,62	620	4,64	11,96
2,06	0,72	1700	4,12	3,87
2,94	0,67	540	5,88	17,45
2,42	0,62	510	4,84	15,15
1,75	0,57	600	3,50	9,34
2,74	0,67	540	5,48	14,53
1,86	0,62	480	3,72	12,40
0,93	0,98	1920	1,86	1,55
1,08	1,03	840	2,16	4,12
1,08	1,13	1380	2,16	2,62
0,88	1,13	1680	1,76	1,67
1,13	1,13	1740	2,26	2,07
2,06	3,71	1200	4,12	5,50
2,78	3,35	1560	5,56	5,69
1,55	3,71	1560	3,10	3,18
2,27	0,82	1410	4,54	5,16
2,16	0,82	440	4,32	15,70
1,75	0,82	1410	3,50	3,98
1,60	0,62	330	3,20	15,60
2,11	0,67	580	4,22	11,68
1,13	0,67	290	2,26	12,56
1,24	1,34	720	2,48	5,51
0,72	1,29	490	1,44	4,72
0,77	1,24	600	1,54	4,11
1,29	1,24	230	2,58	18,18
1,29	1,24	1200	2,58	3,44
0,52	0,72	540	1,04	3,09
0,62	0,82	480	1,24	4,14
0,52	0,88	1020	1,04	1,63
0,62	0,88	800	1,24	2,48
2,78	4,74	1200	5,56	7,41
3,25	6,03	960	6,50	10,84
1,77	4,54	160	2,54	25,50

p-Aminohippursäure-Sekretion

$\left[\text{PAH} \right]_{\text{T}}$ mM/l	$\left[\text{PAH} \right]_{\text{S}}$ mM/l	L μ	$\dot{M}_{\text{PAH}}$ $\mu\text{M}/\text{min} \times 10^{-5}$	$\dot{M}_{\text{PAH}}/A$ $\mu\text{M}/\text{min}/\text{cm}^2 \times 10^{-2}$
1,44	2,84	1200	2,88	2,84
2,16	2,84	1920	4,32	3,60
3,35	3,61	2000	6,70	5,37
2,06	3,09	1260	4,12	5,24
2,42	1,70	1990	4,84	3,88
2,96	1,73	1870	5,92	5,06
3,57	1,73	480	7,14	23,80
3,09	1,84	1570	6,18	6,27
2,81	1,88	1380	5,62	6,50
2,42	2,00	1840	4,84	2,73
3,51	3,76	1200	7,02	9,36
3,51	4,17	480	7,02	23,40
2,78	4,48	350	5,56	26,30
2,73	4,79	240	5,46	36,40
2,53	5,10	300	5,06	30,10
2,94	4,69	1080	5,88	8,70
2,78	3,86	1020	5,56	8,74
1,55	3,86	480	3,10	10,32
1,96	6,91	1560	3,92	4,02
2,73	5,46	1100	5,46	7,94
2,27	6,19	540	4,54	13,43
2,68	7,16	1800	5,36	4,76
1,80	7,74	1740	3,60	3,30
1,91	8,20	660	3,82	9,32
2,84	9,80	1000	5,68	8,93
2,27	7,74	940	4,54	7,70
3,20	11,33	660	6,40	15,60
2,48	12,38	2280	4,96	3,47
2,48	13,10	600	4,94	13,24
2,16	14,34	1000	4,32	6,93
2,27	16,23	1320	4,54	5,51
2,99	10,15	300	5,98	32,30
2,27	10,72	780	4,54	9,31
2,01	12,69	540	4,02	11,90

Tab. VI: Gleichzeitige Bestimmung der Reabsorption und Sekretion von PAH bei Durchströmung bei pH 5 und 8.

$[PAH^*]_P$ = Ausgangskonzentration der C^{14} -PAH im Perfusat.

$[PAH^*]_T$ = Konzentration der C^{14} -PAH im Tubulus.

$[PAH] + PAH^*_T$ = chemisch bestimmte Gesamtkonzentration der
der radioaktiven und nichtradioaktiven PAH im Tubulus.

$[PAH]_T$ = errechnete Konzentration der nichtmarkierten PAH
im Tubulus.

$[PAH]_S$ = Serumkonzentration von PAH.

p-Aminohippursäure-Sekretion und -Reabsorption

H	$[PAH]^*_{\text{P}}$		$[PAH]^*_{\text{T}}$		$[PAH]^*_{\text{T}}$		$[PAH]^*_{\text{T}}$		$\frac{[PAH]^*_{\text{T}}}{[PAH]^*_{\text{P}}} \times 100$		$\log \frac{[PAH]^*_{\text{T}}}{[PAH]^*_{\text{P}}} \times 100$		L
	mM/l	mM/l	mM/l	mM/l	mM/l	mM/l	mM/l	mM/l				μ	
, 0	2, 58	3, 20	2, 58	0, 62	4, 12	100	2, 000	310					
		2, 65	2, 06	0, 57	4, 38	80	1, 903	2550					
		2, 38	2, 09	0, 19	4, 50	81	1, 908	970					
		2, 52	2, 32	0, 20	5, 66	90	1, 954	1440					
	-	-	2, 50	-	5, 66	97	1, 987	650					
, 0	2, 27	2, 68	2, 18	0, 50	5, 93	96	1, 982	550					
		3, 97	1, 98	1, 99	5, 93	88	1, 944	1960					
		3, 97	2, 02	1, 95	7, 20	89	1, 949	1710					
		2, 42	2, 20	0, 22	5, 93	97	1, 987	150					
	-	-	1, 92	-	8, 66	84	1, 924	1560					
0	2, 01	3, 92	2, 09	1, 83	9, 29	92	1, 964	1860					
		-	2, 21	-	9, 70	97	1, 987	140					
		4, 12	2, 04	2, 08	10, 31	90	1, 954	1590					
		4, 02	1, 86	2, 16	10, 92	82	1, 914	930					
	-	-	2, 18	-	11, 32	96	1, 982	1100					
0	2, 01	2, 52	1, 78	0, 74	4, 85	88	1, 944	610					
		-	1, 91	-	4, 85	95	1, 978	990					
		-	1, 94	-	5, 00	97	1, 987	400					
		1, 76	1, 82	-0, 06	4, 80	91	1, 959	120					
	-	-	1, 84	-	4, 90	92	1, 964	1410					
	3, 82	3, 82	1, 86	1, 96	5, 10	92	1, 964	1950					

pH	$\left[\text{PAH}^* \right]_{\text{P}}$ mM/L	$\left[\text{PAH} + \text{PAH}^* \right]_{\text{T}}$ mM/l	$\left[\text{PAH}^* \right]_{\text{T}}$ mM/l	$\left[\text{PAH} \right]_{\text{T}}$ mM/l	$\left[\text{PAH} \right]_{\text{S}}$ mM/l	$\frac{\left[\text{PAH}^* \right]_{\text{T}}}{\left[\text{PAH}^* \right]_{\text{P}}} \times 100$	$\log \frac{\left[\text{PAH}^* \right]_{\text{T}}}{\left[\text{PAH} \right]_{\text{P}}} \times 100$	L μ
5,0	2,11	3,51	1,92	1,59	12,01	91	1,959	940
		3,51	1,76	1,76	12,38	83	1,919	920
		-	1,96	-	12,38	93	1,968	630
		4,28	1,87	2,41	11,70	89	1,949	1860
		3,51	1,76	1,75	10,77	83	1,919	1550
		2,58	1,89	0,69	10,30	90	1,954	480
5,0	2,12	-	1,79	-	6,39	84	1,924	2220
		-	2,16	-	10,30	102	2,009	980
		-	1,84	-	16,50	87	1,940	2250
		-	1,86	-	16,65	88	1,944	2700
5,0	2,06	5,25	1,63	3,62	10,82	79	1,898	1800
		-	1,79	-	12,10	87	1,940	1400
		5,93	1,52	4,41	13,40	74	1,869	1860
5,0	2,32	-	2,32	-	-	100	2,000	100
8,0	2,37	3,09	2,13	0,86	4,38	90	1,954	980
		3,04	2,06	0,98	5,66	87	1,940	780
		4,49	1,66	2,83	5,93	70	1,845	2000
		3,51	2,09	1,42	5,93	88	1,944	1140
		3,40	2,04	1,36	5,66	86	1,934	1500
		3,61	2,04	1,57	5,93	86	1,934	1420
8,0	2,37	3,71	2,18	1,53	6,19	92	1,964	530
		3,40	2,20	1,20	6,19	93	1,968	210
		4,23	2,09	2,14	6,19	88	1,944	1110
		-	-	-	-	-	-	-

p-Aminohippursäure-Sekretion und -Reabsorption

pH	$\left[\text{PAH}^* \right]_{\text{P}}$ mM/l	$\left[\text{PAH} + \text{PAH}^* \right]_{\text{T}}$ mM/l	$\left[\text{PAH}^* \right]_{\text{T}}$ mM/l	$\left[\text{PAH} \right]_{\text{T}}$ mM/l	$\left[\text{PAH} \right]_{\text{S}}$ mM/l	$\frac{\left[\text{PAH}^* \right]_{\text{P}}}{\left[\text{PAH}^* \right]_{\text{P}}} \times 100$	$\log \frac{\left[\text{PAH}^* \right]_{\text{T}}}{\left[\text{PAH}^* \right]_{\text{P}}} \times 100$	L μ
7,0	2,32	2,84	1,67	1,17	4,07	72	1,857	1530
	2,68	2,68	1,86	0,82	3,35	80	1,903	1160
	2,32	2,32	1,86	0,46	2,88	80	1,903	990
8,0	2,09	2,68	1,48	1,20	4,12	71	1,851	870
	-	-	1,65	-	4,74	79	1,898	760
	2,94	2,94	1,62	1,32	5,05	77	1,886	1540
	2,89	2,89	1,47	1,42	5,10	71	1,851	1960
	-	-	1,65	-	4,85	79	1,898	810
	-	-	1,64	-	5,05	78	1,892	1110
	3,04	3,04	1,55	1,49	5,10	74	1,869	1560
	2,94	2,94	1,54	1,40	5,10	73	1,863	1725
	-	-	1,74	-	5,10	83	1,919	750
	2,14	-	1,73	-	6,09	82	1,914	740
8,0	-	-	1,96	-	7,48	92	1,964	-
	3,30	3,30	1,48	1,82	7,74	69	1,839	2250

VII

Ergänzungen zu den Berechnungen

Berechnung des transtubulären Nettowasserflusses (zu Seite 13):

$$c_1 \cdot \bar{V}_1 = c_2 \cdot \bar{V}_2 \quad (a)$$

$$\bar{V}_1 - \bar{V}_2 = \bar{V}_{H_2O} \quad (b)$$

c_1 = Ausgangskonzentration des Inulins im Perfusat

c_2 = Inulinkonzentration im Perfusat nach Durchströmung

$\bar{V}_1$ und $\bar{V}_2$ = Perfusionsraten am Anfang und Ende der durchströmten Tubulusstrecke

$\bar{V}_{H_2O}$ = transtubulärer Wasserfluss

Berechnung der transportierten Menge (zu Seite 27):

$$\dot{M} = c \cdot v$$

$\dot{M}$ = pro Zeiteinheit transportierte Substanzmenge

c = Konzentration in mM/l der Substanz im Perfusat nach Durchströmung

v = Perfusionsrate in l/min

Berechnung der transtubulären Permeabilität (zu Seite 21):

Fluß in x-Richtung im Raum 1:

$$\phi_1 = v_1 \cdot c_1 \quad (a)$$

Fluß in y-Richtung von Raum 1 nach Raum 2:

$$\phi_{1,2} = P_{1,2} \cdot (c_1 - c_2) \quad (b)$$

VII₂

Weiterhin gilt Bilanzgleichung:

$$\begin{aligned} -\pi r_1^2 \cdot \phi_1 &= 2\pi r_1 \phi_{1,2} dx \\ -\phi_1 &= \frac{2}{r_1} \int \phi_{1,2} dx \\ -\frac{d\phi}{dx} &= \frac{2}{r_1} \cdot \phi_{1,2} \end{aligned} \quad (c)$$

v_1 ist unabhängig von x . Gleichung (a) in (c):

$$\begin{aligned} -\frac{d(v_1 - c_1)}{dx} &= \frac{2}{r_1} \cdot \phi_{1,2} \\ -\frac{dc_1}{dx} &= \frac{2}{v_1 r_1} \cdot \phi_{1,2} \end{aligned} \quad (d)$$

Gleichung (d) in (b):

$$-\frac{dc_1}{dx} = \frac{2P}{v_1 r_1^2} \cdot (c_1 - c_2) \quad (e)$$

Setzt man $\frac{2P}{v_1 r_1^2} = Z$, ändert sich Gleichung (e):

$$-\frac{dc_1}{dx} = Zc_1 - Zc_2 \quad (e_1)$$

$$\int \frac{dc_1}{c_1} = -Z \int dx$$

$$\ln c_1 = -Zx + \ln K$$

$$c_1 = K \cdot e^{-Zx}$$

$$\frac{dc_1}{dx} = -Z \cdot K \cdot e^{-Zx} + \frac{dK}{dx} \cdot e^{-Zx} \quad (f)$$

Gleichung (f) in (e₁):

$$\frac{dK}{dx} \cdot e^{-Zx} = Zc_2$$

Annahme: c_2 ist nicht von x abhängig, $c_2 = \text{konstant}$:

$$\int dK = Zc_2 \int e^{+Zx} dx$$

$$K = c_2 e^{Zx}$$

$$c_1 = K e^{-Zx} + c_2 \quad (g)$$

VII₃

Versuchsbedingungen: $c_1 = c_a$ an der Stelle A; $c_2 = 0$.

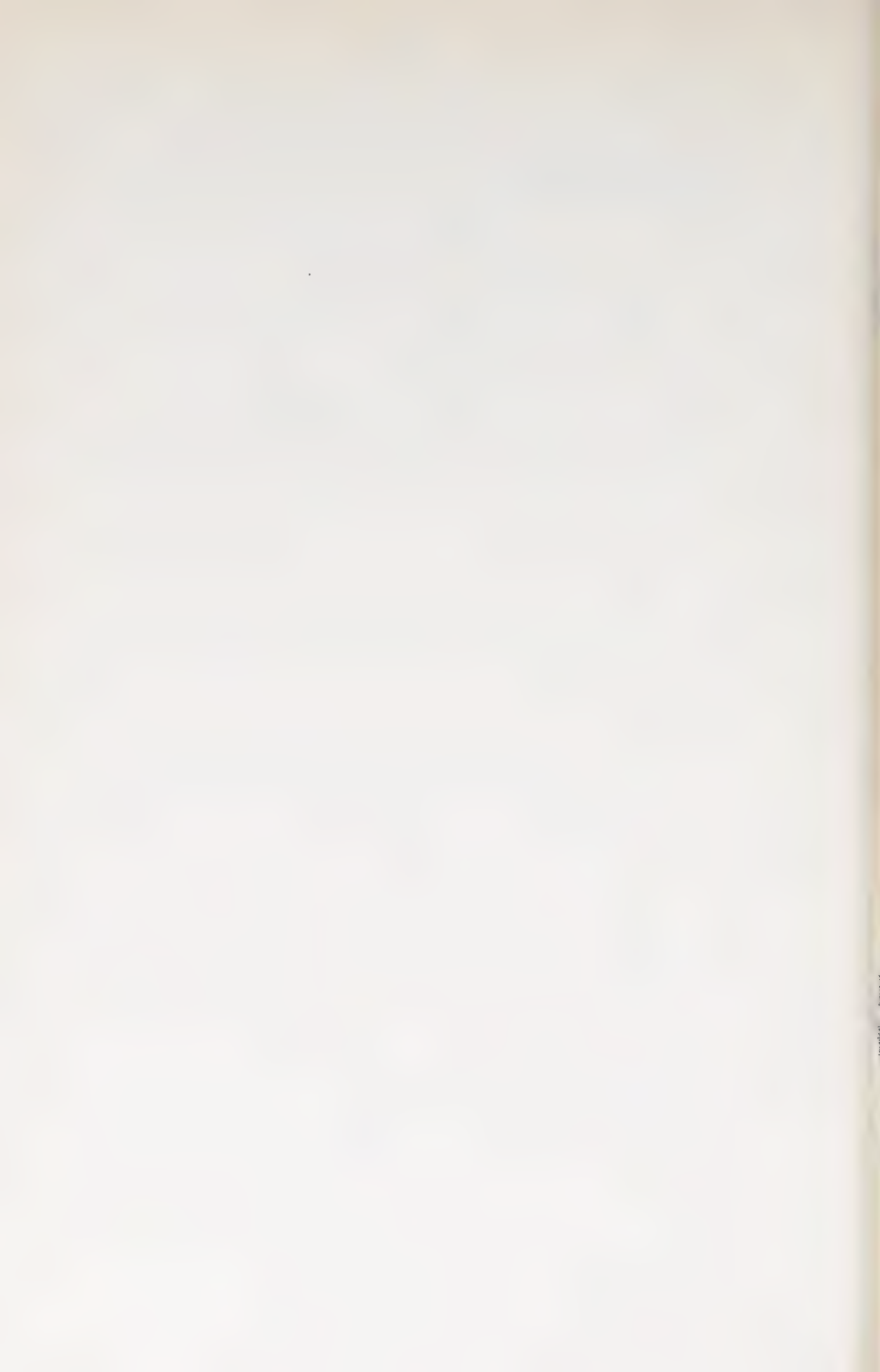
Gleichung (g) wird dann:

$$c_1 = c_a e^{-\frac{2P_{1,2}}{v_1 r_1} \cdot x}$$

$$\ln \frac{c_1}{c_a} = -\frac{2P_{1,2}}{v_1 r_1} \cdot x$$

$$P_{1,2} = v_1 \cdot \frac{r_1}{2} \cdot \frac{1}{x} \cdot \ln \frac{c_a}{c_1} \quad (h)$$

in der c_1 die Konzentration am Ende des durchströmten Tubulus ist.



LEBENS LAUF

Als Sohn von Gustav Sonnenberg und seiner Ehefrau Wanda, geb. Neumann, wurde ich am 9. 8. 1935 in Danzig geboren. Von 1941 bis 1945 besuchte ich die Volksschule zu Graudenz, Westpreußen. Nachdem ich für ein Jahr die Volksschule zu Hagenow-Heide, Mecklenburg, besuchte, wurde ich 1946 an dem Gymnasium zu Verden, Niedersachsen zum Studium zugelassen. Dieses besuchte ich bis zu meiner Auswanderung nach Canada im Jahre 1949. In Canada legte ich 1954 die Prüfung für das "Senior Matriculation" ab und begann mit dem Chemiestudium an der University of Alberta, Edmonton. 1958 erlangte ich das B.Sc. in Chemie und war für ein Jahr als Forschungsassistent an dem Department of Physiology, University of Alberta tätig. Von 1960 bis 1961 studierte ich an der University of Alberta Physiologie und erlangte 1961 das M.Sc. in Physiologie. Im August 1961 kehrte ich nach Deutschland zurück, um an dem Physiologischen Institut, Göttingen wissenschaftliche Forschung zu betreiben. Seit 1962 bin ich an dem Physiologischen Institut der Freien Universität Berlin als wissenschaftlicher Assistent beschäftigt.

